

**Untersuchungen über die Monosaccharid- und
Aminosäurenaufnahme in die Muskelzelle
und den Erythrozyten bei Lämmern**

Heinrich Hüntemann

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553812_0063

Aus dem Institut für Physiologie, physiologische Chemie
und Ernährungsphysiologie im Fachbereich Tiermedizin
der Universität München

Angefertigt unter Leitung von Priv.-Doz. Dr.E.Scharrer

Untersuchungen über die Monosaccharid- und Aminosäuren-
aufnahme in die Muskelzelle und den Erythrozyten bei
Lämmern



Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

von
Heinrich Hüntemann
aus Schöppingen

München 1976

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Tiermedizin
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent: Priv.-Doz. Dr. E. Scharrer
Korreferent: Prof. Dr. P. Walter

Tag der Promotion: 27. Februar 1976



Meinen lieben Eltern

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Literatur	
1. Die Aufnahme von Monosacchariden in die Muskelzelle sowie in den Erythrozyten	2
2. Der Einfluß von Insulin auf die Aufnahme von Monosacchariden in die Muskelzelle	4
3. Die Aufnahme von Aminosäuren in die Muskelzelle	5
4. Der Einfluß von Insulin auf die Aufnahme von Aminosäuren in die Muskelzelle	7
5. Die Aufnahme von Aminosäuren in die Erythrozyten	8
6. Der Einfluß des Alters auf die Aufnahme von Monosacchariden und Aminosäuren in die Muskelzelle	9
Methodischer Teil	
1. Tiermaterial	10
2. Fütterung der Versuchstiere	11
3. Versuchstechnik	
a) Transportstudien an isolierten Kehlkopfmuskeln	15
b) Transportstudien an Erythrozyten	17
4. Berechnung der Ergebnisse	21
5. Statistik	22

Ergebnisse

1. Altersabhängigkeit der Aufnahme von 3-o-methylglucose (MG) in Muskel- zellen und Erythrozyten	23
2. Altersabhängigkeit der Aufnahme von α -Aminoisobuttersäure (AIB) in die Muskelzellen und Erythrozyten	27
3. Aufnahme von MG in die Muskelzellen und Erythrozyten von Lämmern mit unterschiedlicher Vormagenentwicklung	32
4. Aufnahme von AIB in die Muskelzellen und Erythrozyten von Lämmern mit unterschiedlicher Vormagenentwicklung	38
Diskussion	45
Zusammenfassung	51
Summary	53
Literaturverzeichnis	55

Einleitung

Untersuchungen an Laboratoriumstieren haben gezeigt, daß Monosaccharide und Aminosäuren von Muskelzellen und Erythrozyten auf verschiedene Wege über die Zellmembran aufgenommen werden.

Monosaccharide werden jeweils einem Konzentrationsgefälle folgend durch erleichterte Diffusion über die Zellmembran transportiert, ohne in den Zellen zu akkumulieren. Der Aminosäuretransport durch die Zellmembran der Muskelzelle ist dagegen ein aktiver Transportprozeß.

In diesem Fall kann das Substrat gegen ein Konzentrationsgefälle in die Zelle aufgenommen werden.

Demgegenüber erfolgt die Aminosäureaufnahme in die Erythrozyten beim Säuger durch erleichterte Diffusion.

Sowohl die Monosaccharid- als auch die Aminosäureaufnahme in die Muskelzelle werden durch Insulin stimuliert.

Da entsprechende Untersuchungen über die Monosaccharidaufnahme in den genannten Zellen beim Wiederkäuer nicht vorliegen, wird in dieser Arbeit über die Aufnahme von Monosacchariden in die Muskelzellen und Erythrozyten bei Lämmern berichtet. Es interessierte vor allem im Hinblick auf die ontogene Hypoglykämie des Wiederkäuers, inwieweit die Monosaccharidaufnahme über die Plasmamembran der Muskelzellen und Erythrozyten durch das Alter und die Vormagenentwicklung beeinflußt werden.

Ferner wurde am gleichen Tiermaterial der Einfluß von Insulin auf die Monosaccharidaufnahme untersucht.

Zum Vergleich wurde auch der Aminosäuretransport in die Untersuchungen einbezogen.

Literatur

1. Die Aufnahme von Monosacchariden in die Muskelzelle sowie in den Erythrozyten.

Die Glucoseaufnahme durch die Zellmembran limitiert in der Muskulatur die Glucoseutilisation (15, 77, 78, 90, 93), beim Erythrozyten ist dies jedoch nicht der Fall (17, 117). Damit spielt der Glucosetransport eine wichtige Rolle in der Kontrolle des Muskelstoffwechsels (26, 79). Der Glucoseflux durch die Zellmembran von Erythrozyten (11, 23, 44, 57, 64, 75, 79, 103, 104, 94, 75) sowie von Muskelzellen (6, 14, 20, 43, 51, 53, 54, 79, 83, 108) erfolgt über einen "Carrier" entlang einem Konzentrationsgefälle. Einen derartigen Transportvorgang bezeichnet man als erleichterte Diffusion (25).

Folgende Eigentümlichkeiten charakterisieren die Monosaccharidaufnahme durch die Zellmembran in die genannten Zellen und grenzen diesen Transportprozeß gegen eine einfache Diffusion ab: Sättigungskinetik, Stereospezifität, Wettbewerb verschiedener Monosaccharide um die Aufnahme in die Zellen und Austauschdiffusion (1, 81).

Den ersten Hinweis darauf, daß die Monosaccharidaufnahme in die Zelle keine lineare Funktion der Monosaccharid-Konzentration ist, lieferte schon die Arbeit von Lunds-gaard (66). Bei höheren Monosaccharid-Konzentrationen wurde in diesen Versuchen ein Maximalwert für die Monosaccharidaufnahme erreicht, was auf einen sättigungs-fähigen Transportmechanismus hindeutete.

In vitro-Untersuchen an Erythrozyten (23, 79, 104) und an Muskelzellen (14, 54, 77, 79, 83, 84, 92) ergaben übereinstimmend, daß sich demgegenüber die Monosaccharidaufnahme bei geringen Substratkonzentrationen proportional zur Monosaccharidkonzentration verhält. Erst bei höheren Konzentrationen wurde allmählich ein Plateau erreicht. Auf die Monosaccharidaufnahme in die Muskelzelle lassen sich damit die Gesetze der Michaelis-Menten-Kinetik anwenden.

In vivo-Untersuchungen am M. pectoralis der Ratte (26) bestätigen diese Ergebnisse.

Die Stereospezifizität des Zuckertransportes wurde am intensivsten an menschlichen Erythrozyten untersucht (61, 62, 117). Es wurde gezeigt, daß offenbar Hexosen eine höhere Affinität zum Transportsystem haben als Pentosen, und auch die Konformation der Monosaccharide von größter Bedeutung ist. Die Affinität zum Transportsystem nahm etwa in folgender Reihenfolge ab: D-Glucose > D-Galaktose > D-Xylose > L-Arbinose > D-Arbinose >> L-Xylose, L-Galaktose und L-Glucose.

Für den Muskel ist diese Affinitätsordnung ähnlich (6, 33, 79, 89). Während D-Glucose, D- β -o-methylglucose und 2-deoxyglucose eine hohe Affinität zum Zuckercarrier zeigten, scheint die Affinität von L-Glucose extrem niedrig zu sein (79). Das Alkoholanalogue von Glucose, D-Sorbit, hat sogar überhaupt keine Affinität zum Glucosetransportsystem (33, 77).

Untersuchungen über die Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Monosacchariden beim Transport durch die

Plasmamembran ergaben, daß eine große Gruppe von Monosacchariden um ein einziges Transportsystem konkurriert. Dies trifft sowohl für den Erythrozyten (44, 60, 64, 94, 108) als auch für die Muskelzelle (6, 14, 42, 54, 108) zu.

Als stichhaltigster Beweis dafür, daß Monosaccharide nicht durch einfache Diffusion in die Muskelzellen bzw. Erythrozyten gelangen, kann das als Austauschdiffusion oder Gegentransport bekannte Phänomen angesehen werden. Es ist nämlich möglich, den Transport eines Monosaccharids entlang einem Konzentrationsgefälle mit dem Transport eines strukturell verwandten Monosaccharids in entgegengesetzter Richtung zu koppeln. Dies geht mit einer Beschleunigung des Transportes beider Zucker einher. Sowohl an Muskelzellen als auch an Erythrozyten konnte dieses Phänomen nachgewiesen werden (79, 83, 103, 108, 116, 118).

2. Der Einfluß von Insulin auf die Aufnahme von Monosacchariden in die Muskelzelle.

Wenn auch für den Zuckertransport in der Muskulatur Insulin nicht absolut essentiell zu sein scheint, - bei Diabetes fördern sowohl Muskularbeit (42) als auch Anoxie (78) die Zuckeraufnahme in die Muskelzellen -, ist die Regulation der transmembranalen Zuckeraufnahme durch Insulin von größter physiologischer Wichtigkeit (101).

In vitro-Untersuchungen an verschiedenen Muskeln von Froschen und Ratten ergaben, daß Insulin die intrazelluläre Aufnahme verschiedener Monosaccharide beschleunigt (7, 10, 12, 21, 22, 33, 34, 38, 49, 53, 63, 76, 77, 80, 87, 88, 89, 90, 93).

Auch bei *in vivo*-Untersuchungen an der Ratte (76) ließ sich dieser Effekt darstellen.

Trotz vielfältiger Untersuchungen über den Einfluß von Insulin auf die Monosaccharidaufnahme ist der Wirkungsmodus noch nicht vollständig geklärt. Nach Ansicht verschiedener Autoren (36, 65, 72, 106, 107, 120) wirkt Insulin direkt auf die Zellmembran ein. Offensichtlich lagert sich Insulin an spezifische Rezeptoren der Zellmembran an. Daraufhin kommt es möglicherweise zu einer Konformationsänderung der Zellmembran, wodurch die Beweglichkeit des Zucker-Carriers in der Lipidbarriere der Membran erhöht werden könnte.

Auch die Beeinflussbarkeit des Insulineffektes durch die Temperatur (14, 43, 53) sowie Untersuchungen mit verschiedenen Membran-Stabilisierern (23) deuten in diese Richtung.

Untersuchungen über die Transportkinetik der Monosaccharidaufnahme in die Zelle erbrachten recht unterschiedliche Ergebnisse bezüglich des Insulininflusses. Am *M. sartorius* des Frosches ließ Insulin lediglich die maximale Geschwindigkeit der Monosaccharidaufnahme (V_{max}) anwachsen, ohne K_m zu beeinflussen (87, 88). Nach anderen Berichten (29) bewirkt Insulin auch eine Erniedrigung des K_m -Wertes und förderte dadurch die Bindung des Substrates an den Carrier.

3. Die Aufnahme von Aminosäuren in die Muskelzelle

Für die Aufnahme von Monosacchariden und Aminosäuren in die Muskelzellen sind trotz gewisser Ähnlichkeiten separate Transportmechanismen vorhanden (85).

Der Hauptunterschied besteht darin, daß Aminosäuren im Gegensatz zu Monosacchariden unter Verbrauch von Energie gegen einen Konzentrationsgradienten in die Zellen aufgenommen werden können, und daß mehrere Transportsysteme an der Aufnahme beteiligt sind (5, 7, 17, 34, 52, 85, 102).

Untersuchungen an Froschmuskeln (85), am Rattenzwerchfell (2, 5) sowie am embryonalen Kükenherz (39) ergaben, daß die Aufnahme von Aminosäuren in die Muskelzelle fast ausschließlich durch einen sättigungsfähigen, carrier-vermittelten aktiven Transportprozeß erfolgt. In geringem Umfang können Aminosäuren jedoch auch durch Diffusion in die Zelle gelangen (5, 85).

Man unterscheidet heute bei der aktiven Komponente der Aminosäurenaufnahme verschiedene Transportsysteme mit zum Teil überlappender Substratspezifität (19). So ist das Transportsystem A in hohem Maße auf die Gegenwart von Na^+ angewiesen (18, 90, 102, 111) und unterscheidet sich dadurch zusätzlich von dem Na^+ - unabhängigen L-System (19, 86).

Nach Riggs und Mc Kirahan (102) wird die nicht metabolisierbare Modellaminosäure α -Aminoisobuttersäure (AIB), die mit einem Teil der im tierischen Organismus vorkommenden Aminosäuren (Glycin, Prolin, Alanin, Serin) um die Aufnahme in die Zellen konkurriert (19, 86, 102), fast vollständig durch das Na^+ -abhängige und insulininsensitive System A transportiert. Der Transport von L-Leucin sowie anderen Aminosäuren mit langer Hydrocarbonseitenkette ist gegenüber Veränderungen des Na^+ - Gehaltes unempfindlich. L- Alanin schließlich gelangt durch 3 Transportsysteme in die Zelle: neben einem Na^+ -unabhängigen Transportsystem gibt es noch 2 Na^+ -abhängige Transport-

systeme, von denen jedoch nur eines insulinsensitiv ist (= A-System).

Die Wirkung von Na^+ auf die Aufnahme von Aminosäuren besteht offenbar darin, daß es sich als Kosubstrat an die jeweiligen Carrier anlagert und somit die Affinität der Carrier zu den Aminosäuren stark erhöht (52, 101, 112, 114).

4. Der Einfluß von Insulin auf die Aufnahme von Aminosäuren in die Muskelzelle.

Während Insulin auf die intrazelluläre Aminosäureaufnahme per Diffusion keinen Einfluß hat (2, 85, 99), wird die carriervermittelte sättigungsfähige Aufnahme durch Insulin beschleunigt (1, 2, 7, 13, 29, 50, 52, 68, 70, 85, 121).

Aus zahlreichen Untersuchungen geht jedoch hervor (2, 40, 68, 121), daß die Aufnahme von Aminosäuren in die Muskelzelle nur zum Teil durch Insulin stimuliert wird. So wird nach Befunden von Riggs u. Mc Kirahan (101, 102) bei der Ratte vor allem das Transportsystem A durch Insulin aktiviert. Das Transportsystem L dagegen scheint auf Insulin so gut wie nicht anzusprechen.

Es ist zwar bekannt, daß Insulin in Muskelzellen den Einbau von Aminosäuren in Proteine beschleunigen kann (7, 55, 69, 105, 122), aber offensichtlich liegt der Stimulierung der Aminosäureaufnahme in die Muskelzelle durch Insulin keine Proteinsynthese zugrunde. Nach Hem-

mung der Proteinsynthese durch Pyromycin und Cycloheximid trat nämlich der Effekt von Insulin auf die Aminosäurenaufnahme noch deutlicher in Erscheinung (69).

Die Wirkung von Insulin auf die Aufnahme von Aminosäuren in die Muskelzellen hat gewisse Ähnlichkeiten mit der Wirkung dieses Hormons auf die Monosaccharidaufnahme in die Muskelzelle. So haben kinetische Untersuchungen am *M. sartorius* des Frosches (85) ergeben, daß die durch Insulin in der Muskulatur hervorgerufene Stimulierung der intrazellulären Aminosäurenaufnahme auf eine Erhöhung der maximalen Aminosäureaufnahmerate ($=V_{max}$) und nicht auf einer Verringerung der Michaeliskonstante ($=K_m$) beruht.

5. Die Aufnahme von Aminosäuren in die Erythrozyten

Im Gegensatz zu Vogelerythrozyten, die Aminosäuren durch einen aktiven Transportprozeß über die Zellmembran aufnehmen (19, 115), scheinen die Erythrozyten von Säugern Aminosäuren in ähnlicher Weise wie auch Monosaccharide aufzunehmen: Aminosäuren werden von Säugerythrozyten nicht akkumuliert (31, 32, 114, 119, 124).

Es zeigte sich jedoch, daß bezüglich der Aufnahme in die Erythrozyten Aminosäuren sehr unterschiedliche Affinitäten zum Transportsystem haben. Während die Aufnahme einiger neutraler Aminosäuren (wie z.B. Leucin, Isoleucin, Methionin und Tyrosin) sehr rasch erfolgte, wurde bei anderen neutralen Aminosäuren (wie z.B. Alanin und Serin) eine sehr langsame Aufnahme beobachtet (133). Die Aufnahme von AIB in Erythrozyten ähnelt dabei sehr der von Alanin und Serin (19).

6. Der Einfluß des Alters auf die Aufnahme von Monosacchariden und Aminosäuren in die Muskelzelle.

Fricke und Clark (34) stellten bei Untersuchungen am isolierten Rattenzwerchfell fest, daß mit zunehmendem Alter die Geschwindigkeit der AIB-Aufnahme in die Muskelzellen zurückgeht. Diese Abnahme der Transportaktivität, die schon ante partum (20. 21. und 22 Tag der Trächtigkeit) beobachtet wurde, setzte sich post partum bis zum 14. Lebenstag kontinuierlich fort.

Auf die Stimulierbarkeit der AIB-Aufnahme durch Insulin wirkte sich dagegen das Alter der Tiere nicht aus.

Nach in vitro-Untersuchungen von Elsas und Mc Donell (30) scheint sich die altersabhängige Abnahme der Transportrate für Aminosäuren über diesen Altersabschnitt hinaus fortzusetzen. In diesen Untersuchungen nahm die Aufnahme von AIB in die Muskelzellen bei Ratten zwischen dem 10. und 100. Lebenstag allmählich ab (Alter der verwendeten Tiere: 10, 25, 37, 50 und 100 Tage).

Beide Untersuchungen (30, 34) ließen zwar eine Abnahme der AIB-Aufnahme in die Muskelzellen mit zunehmendem Alter erkennen, doch blieb die Höhe des Insulineffektes auf die Aufnahmerate hierdurch unberührt.

Analoge Befunde wurden von anderen Autoren (16) am Skelettmuskel der Ratte auch in vivo erhoben.

Ebenso wie der Aminosäuretransport scheint auch die intrazelluläre Aufnahme von Monosacchariden in die Muskelzellen mit zunehmendem Alter der Versuchstiere abzunehmen (34). Während auch hier sich eine Abnahme der insulinstimulierten Aufnahme von 2-deoxyglucose zeigte, blieb die Höhe des Insulineffektes nahezu gleich hoch.

Methodischer Teil

1. Tiermaterial

Alle Tiere, die für die Monosaccharid- und Aminosäuren-transportstudien Verwendung fanden, gehörten zur Rasse "Merino-Landschaf".

- a) Die Untersuchungen über den Einfluß des Alters auf die Monosaccharidaufnahme in die Muskelzellen wurden an Junglämmern (Alter: bis 7 Tage, Gewicht: 3-6 kg) sowie an 3 - 4 Monate alten Lämmern (Gewicht 15 - 26 kg) durchgeführt.
- b) Für entsprechende Untersuchungen an Erythrozyten standen Junglämmer (Alter: bis 7 Tage, Gewicht: 4 - 7 kg), 8 Wochen alte Lämmer (Gewicht: 11 - 17 kg) sowie 3 - 4 Monate alte Lämmer (Gewicht: 15 - 26 kg) zur Verfügung.
- c) Der Einfluß der Vormagenentwicklung auf die Monosaccharidaufnahme in die Muskelzellen und Erythrozyten wurde an 2 Gruppen gleichaltriger Lämmer (Alter: 3-4 Monate, Gewicht: 15 - 28 kg) untersucht, die infolge entsprechender Fütterung (s.u.) eine unterschiedliche Vormagenentwicklung aufwiesen.
- d) Zur Prüfung des Einflusses von Insulin auf die Monosaccharidaufnahme in die Muskelzellen und Erythrozyten dienten ebenfalls die bereits genannten Tiergruppen.
- e) Die Auswirkung des Alters auf die Aminosäureaufnahme in die Muskelzellen wurde an Junglämmern (Alter: bis

7 Tage, Gewicht: 4-8 kg), an 3 - 4 Monate alten Lämmern (Gewicht: 16-28 kg) sowie an etwa 1 Jahr alten Schafen (Gewicht: ca. 50 - 70 kg) untersucht.

- f) Entsprechende Untersuchungen an Erythrozyten wurden mit Junglämmern (Alter: bis 7 Tage, Gewicht: 4 - 8 kg) und älteren Lämmern (Alter: 3 - 4 Monate, Gewicht: 16 - 18 kg) durchgeführt.
- g) Zur Klärung der Frage, ob die Aminosäureaufnahme in die Muskelzellen und Erythrozyten von der Vormagenentwicklung abhängig ist, wurden analog zu den entsprechenden Monosaccharidtransportstudien ebenfalls 2 Gruppen von Lämmern aufgezogen, die fütterungsbedingte Unterschiede in der Vormagenentwicklung aufwiesen (Alter : 3-4 Monate, Gewicht: 15-28 kg).
- h) Der Einfluß von Insulin auf die Aminosäureaufnahme in die Muskelzellen wurde an den unter e) und g) schon erwähnten Lämmern untersucht. Zudem dienten ca. 1/2 Jahre alte Masthammel (Gewicht: 40 - 60 kg) und ca. 1-jährige Schafe (Gewicht: 60-80 kg) zur Klärung der Frage, ob Glukagon die Aminosäureaufnahme in Muskelzellen beeinflusst.

2. Fütterung der Versuchstiere

- a) Die für die Versuche verwendeten Junglämmer wurden teilweise unmittelbar nach Aufnahme der Kolostralmilch für die Versuche herangezogen. Der überwiegende Teil dieser Lämmer war jedoch im Anschluß an die Kolostralmilchaufnahme abgesetzt worden und an einer

'Lammbär' mit Milchaustauschertränke (Tab. 1) ernährt worden.

- b) Für die Untersuchungen über den Einfluß des Alters auf die Monosaccharidaufnahme in die Muskelzellen wurden neben den schon genannten Junglämmern (s.o.) auch ältere Lämmer (Alter: 3-4 Monate) herangezogen. Diese Lämmer waren bis zum Alter von 6 Wochen an der 'Lammbär' aufgezogen worden. Sie erhielten neben der Milchaustauschertränke auch Heu und Kraftfutter ad libitum. Ab der 6. Woche wurde keine Milchaustauschertränke mehr verabreicht sondern Maissilage, Kraftfutter und Heu zur freien Aufnahme angeboten.
- c) Die für die Untersuchungen über den Einfluß der Vormagenentwicklung auf den Monosaccharidtransport verwendeten Lämmer wurden innerhalb der ersten Lebensstage von den Mutterschafen abgesetzt und bis zur 4. Lebenswoche ausschließlich mit Milchaustauschertränke (Tab. 1) ernährt. Bei sechsmaliger Fütterung pro Tag nahmen die Lämmer in der 1. Woche durchschnittlich 1 l/Tag auf und bis zur 4. Woche steigerte sich die Tränkeaufnahme auf etwa 2,5 l/Tier/Tag. Die Konzentration der Milchaustauschertränke betrug 160 g Trockenmasse / l.

Anschließend wurden die Lämmer nach Gewicht und Geschlecht in 2 möglichst homogene Gruppen aufgeteilt. Während bei der einen Gruppe die Entwicklung des Vormagensystems durch ausschließliche Milchernährung gehemmt wurde (M-Lämmer), wurde der anderen Gruppe, um eine normale Entwicklung des Vormagensystems zu erreichen, Heu und Kraftfutter (Tab. 2) ad libitum angeboten. Durch allmähliche Reduzierung der Milchaustau-

schertränke wurden diese Lämmer im Alter von etwa 5 Wochen gänzlich auf die Heu - Kraftfutter - Ernährung umgestellt (HK-Lämmer).

Das Durchschnittsgewicht der M-Lämmer betrug zum Zeitpunkt der Gruppeneinteilung $8,0 \pm 2,5$ kg, dasjenige der HK-Lämmer $8,0 \pm 1,2$ kg.

Bis zur 8. Lebenswoche wurde die Milchaufnahme der M-Lämmer auf 3 l/Tier/Tag gesteigert. Anschließend wurden die Lämmer über einen Fütterungsautomaten (Fa. Förster, Landw. Apparatebau, Tettnang/Allgäu) ad libitum ernährt.

Während die HK-Lämmer stets Heu ad libitum angeboten bekamen, wurde die Kraftfütteration nach Gewichtsentwicklung zugeteilt. Als Maßstab diente dabei der Gewichtszuwachs der M-Lämmer.

Am Versuchsende (Alter der Tiere: 3-4 Monate) betrug das Gewicht der HK-Lämmer $22,9 \pm 5,1$ kg, während die M-Lämmer $21,1 \pm 3,7$ kg erreichten.

Die für die Aminosäuretransportstudien herangezogenen Lämmer wurden bis zur 4. Lebenswoche mit Hilfe des Fütterungsautomaten (s.o.) mit einer Milchaustauschertränke (Tab. 1), deren Konzentration 160 g Trockenmasse/l betrug, gefüttert.

Nach der 4. Lebenswoche wurden die Lämmer nach Alter und Geschlecht in $\sim$ möglichst homogene Gruppen aufgeteilt.

Die M-Lämmer, die auch weiterhin per Fütterungsautomat ausschließlich Milchaustauschertränke ad libitum erhielten, hatten zu diesem Zeitpunkt ein Durchschnittsgewicht von $11,3 \pm 2,3$ kg.

Die HK-Lämmer, deren Durchschnittsgewicht zu diesem Zeitpunkt $11,0 \pm 2,0$ kg betrug, erhielten neben der Milchaustauschertränke zusätzlich Heu und Kraftfutter ad libitum angeboten und wurden nach einer etwa 10-tägigen Gewöhnungsperiode im Alter von 6 1/2 Wochen ausschließlich auf die Fütterung von Heu und Kraftfutter umgestellt.

Die Gewichtsentwicklung der HK-Lämmer wurde anschließend bei Heuangebot ad libitum durch Beschränkung der Kraftfutteraufnahme der Entwicklung der M-Lämmer soweit wie möglich angepaßt.

Zum Zeitpunkt der Tötung der Tiere (Alter: 3-4 Monate) betrug das Gewicht der HK-Lämmer $27,0 \pm 4,6$ kg und das der M-Lämmer $22,3 \pm 7,6$ kg.

- d) Für einige die Aminosäurenaufnahme in die Muskelzelle betreffende Versuche wurden auch ältere Schafe (Alter: ca. 1/2 bzw. 1 Jahr) herangezogen, die zur Schlachtung an den Städt. Schlachthof München angeliefert worden waren.

Detaillierte Einzelheiten über die Fütterung dieser Tiere waren nicht bekannt, und die Angaben über Alter und Gewicht beruhen auf Schätzungen.

Tabelle 1: Zusammensetzung des Milchaustauschers

Magermilchpulver	57,5
Fett	30,0
Süßmolkenpulver	2,5
teilverzuckerte Maisquellstärke	8,0
wasserfreie Kieselsäure (Fließhilfsstoff)	1,0
Mineralstoffvormischung	0,7
Antibiotikavormischung	0,2
Vitaminvormischung	0,1
	100,0

Tabelle 2: Zusammensetzung des Kraftfutters

Sojaschrot	33,3
Zuckerrübenschnitzel	30,8
Hafereschrot	16,7
grob gemahlenes Gerstenbrot	16,7
Vitamin-Mineralstoff-Mischung	<u>2,5</u>
	100,0

3. Versuchstechnik

a) Transportstudien an isolierten Kehlkopfmuskeln.

Vor der Entnahme der Muskeln wurden die Versuchstiere, mit Ausnahme der Schlachthof-Tiere, mit Rompun^R (1,0 mg/kg KGW) und Ketanest^R (2,5 mg/kg KGW) narkotisiert. Den narkotisierten Tieren wurde jeweils der gesamte Kehlkopf entnommen, der sofort auf Eis gelegt wurde. Unter größtmöglicher Schonung der einzelnen Muskelfasern wurde die Mm. cricothyreoidei samt ihren Insertionsstellen freipräpariert. Die Insertionsstellen wurden in Form von Knorpelspangen an den intakten Muskeln belassen, und die so präparierten Muskel kamen sogleich in einen 250 ml - Erlenmeyerkolben, der ca. 100 ml auf pH 7,4 eingestellten Krebs-Henseleit-Bicarbonatpuffer (Tab. 3) enthielt.

Bei Zimmertemperatur erfolgte unter O₂/CO₂-Athmosphäre (95 : 5) eine 15-minütige Praeinkubation. Die Schüttelfrequenz betrug 120 Oszillationen/min..

Den Schlachthoftieren wurde unmittelbar nach der Tötung mit einem Bolzenschußapparat jeweils der Kehlkopf entnommen. Die Präparation und Praeinkubation der Mm. cricothyreoidei erfolgte auch in diesem Fall, wie bereits beschrieben.

Nach voraufgegangener Praeinkubation wurde jeweils ein *M. cricothyreoides* in einen 50 ml-Erlenmeyerkolben mit 25 ml Krebs-Henseleit-Bicarbonatpuffer (Tab. 3) überführt.

Der Puffer enthielt als Transportsubstrat 5 mM 3-o-methylglucose (=MG) oder 0,5 bzw. 0,065 mM α -Aminoisobuttersäure (= AIB) (Tab.5). Die Substrate waren jeweils ^{14}C -markiert.

Ferner war im Puffer zur Markierung des extrazellulären Geweberaumes ^3H -markiertes Inulin in einer Konzentration von 0,1 mM enthalten (Tab. 5). Die erhaltenen Inulinräume sind in Tab. 6 aufgeführt.

Inkubiert wurde in einem Schüttelwasserbad (Temperatur: 37°C , Dauer: 2 Stunden, Schüttelfrequenz: 120 Oszillationen/min., Atmosphäre: $0 : \text{CO}_2 = 95 : 5$)

Für die Untersuchungen über den Einfluß von Insulin oder Glukagon auf das Transportgeschehen wurden dem Inkubationsmedium zusätzlich Insulin (0,1 bzw. 0,001 I.E./ml Medium) oder Glukagon (0,003 mM) zugegeben (Tab. 5).

Die Muskeln wurden nach Ablauf der Inkubationszeit dem Inkubationsmedium entnommen. Oberflächlich haftende Radioaktivität wurde durch kurzes Schwenken in eiskalter physiologischer NaCl-Lösung abgespült.

Anschließend erfolgten die Abpräparation der mit den Knorpelspangen noch verbundenen Insertionsstellen des Muskels und ein kurzes Abtupfen des Muskels auf Filterpapier. Danach wurden Gewebeproben aus den äußeren Bezirken des Muskels exzidiert. Auf diese Weise war gewährleistet, daß trotz unterschiedlicher Größe der Muskeln bei Tieren unterschiedlichen Alters Muskelteile mit etwa gleichgroßer Diffusionsstrecke erhalten wurden.

Während ein Teil der Muskelproben zur Bestimmung des Gesamtwassergehalts über Nacht bei 105°C getrocknet wurde, wurden andere Muskelproben sowie aliquote Mengen des Inkubationsmediums (0,5 ml) in einem Oxidizer (Packard Sample Oxidizer, Modell 306) ¹⁾ verbrannt. Der Oxidizer trennte nach der Verbrennung die ¹⁴C- und ³H-Aktivität der Proben automatisch in ¹⁴CO₂ - bzw. ³H₂O-haltige Fraktionen, die in Zählfläschchen abgefüllt wurden.

Monophase-40 ¹⁾ diente dabei als Szintillationslösung für die ³H-Messung, Carbo-Sorb ¹⁾ als ¹⁴CO₂-Absorber und Permafluor V ¹⁾ als Szintillationsflüssigkeit für die ¹⁴C-Messung.

Die abgefüllten Meßfläschchen wurden zur Zählung der ³H bzw. ¹⁴C-Aktivität der Proben in einen Flüssigkeitsszintillationszähler (Packard Tricarb Liquid Scintillation Spectrometer, Modell 3075) ¹⁾ überführt.

b) Transportstudien an Erythrozyten

Aus der Vena jugularis der Versuchstiere wurde Blut mit heparinisierten Kanülen entnommen und in 100 ml-Polyäthylenröhrchen, die ca. 10 ml eines auf pH 7,5 eingestellten Standardmediums (Tab. 4) nach Wheeler und Christensen (115) mit Heparin als Antikoagulans enthielten, überführt.

Nach dem anschließenden Zentrifugieren (5 min. bei 1000 x g) wurde der klare Überstand samt dem Leukozytensaum abgesaugt.

Darauf erfolgte eine zweimalige Waschung durch Resuspendierung der Erythrozyten im Standardmedium und

1) Packard Instruments International S.A., Zürich

darauffolgendes Zentrifugieren (5 min. bei 1000 x g). Nach Absaugen des Überstandes wurden die sedimentierten Erythrozyten für die entsprechenden Transportstudien verwendet.

Ein Volumenanteil der gewaschenen Erythrozyten wurde in einem 50 ml-Erlenmeyerkolben aus Polyäthylen im fünffachen Volumen Standardmedium (Tab. 4), das als Transportsubstrat ^{14}C -markierte MG (5,0 mM) (Tab. 5) oder ^{14}C -markierte AIB (0,5 mM) (Tab. 5) enthielt, suspendiert. Zur Markierung der extrazellulären Flüssigkeit diente ^3H -markiertes Insulin (0,1 mM) (Tab. 5).

Zur Prüfung der Frage, ob Insulin die Aufnahme von MG bzw. AIB in die Erythrozyten beeinflusst, wurde dem Inkubationsmedium bei einem Teil der Versuchsansätze Insulin (0,001 I.E./ml Medium) (Tab. 5) zugegeben.

Die Inkubation erfolgte unter den gleichen Bedingungen, wie sie bereits bei den Transportstudien an Kehlkopfmuskeln beschrieben wurden (s.o.).

Nach zwei Stunden wurde die Inkubation durch Zugabe von 50 ml eiskaltem Standardmedium (Tab. 4) ohne Substratzusätze gestoppt und die Suspension sofort in einer Kühlzentrifuge bei 0°C 10 Minuten lang zentrifugiert (1000 x g).

Der klare Überstand wurde darauf restlos abgesaugt und aufbewahrt.

Nach Wägung aliquoter Teile der Erythrozyten wurde ein Anteil der gewogenen Erythrozyten über Nacht bei 105°C zur Bestimmung des Gesamtwassergehaltes getrocknet.

Andere Anteile der gewogenen Erythrozyten und aliquote Mengen (0,5 ml) des abgesaugten Überstandes wurden, wie bei den Muskelversuchen schon beschrieben (s.o.), im Oxidizer verbrannt. Die ^{14}C - bzw. ^3H -Aktivität der dabei anfallenden Proben wurde, wie oben näher ausgeführt, im Flüssigkeitsszintillationszähler gemessen.

Tabelle 3: Zusammensetzung des Krebs-Henseleit-Bicarbonatpuffers (pH 7,4)

NaCl-Lösung	0,90 %ig	100 Teile
KCl-Lösung	1,15 %ig	4 Teile
CaCl_2 -Lösung	0,11 M	3 Teile
KH_2PO_4 -Lösung	2,11 %ig	1 Teil
MgSO_4 -Lösung	3,82 %ig	1 Teil
NaHCO_3 -Lösung	1,30 %ig	21 Teile

+) Die NaHCO_3 -Lösung wurde eine Stunde lang mit CO_2 begast.

Tabelle 4: Zusammensetzung des Erythrozyten-Standardpuffers (pH 7,5)

NaCl	140 mM/l
KCl	5 mM/l
MgSO_4	2 mM/l
Tris-HCl	15 mM/l

Tabelle 5: Konzentrationen der den Inkubationsmedien zugefügten Substrate bzw. Hormone

3-o-methylglucose (= MG) ¹⁾²⁾	5 mM
α-Aminoisobuttersäure (= AIB) ³⁾⁴⁾	0,5 bzw. 0,065 mM
Inulin ⁵⁾⁶⁾	0,1 mM
Insulin ⁷⁾	0,001 bzw. 0,1 I.E./ml
Glukagon ⁷⁾	0,003 mM

- 1) ¹⁴C-markierte MG von Amersham Buchler GmbH & Co. KG, Braunschweig
- 2) nicht markierte MG von Sigma Chemical Company, St. Louis
- 3) ¹⁴C-markierte AIB von Amersham Buchler GmbH & Co. KG, Braunschweig
- 4) nicht markierte AIB von Serva Feinbiochemica, Heidelberg
- 5) ³H-markiertes Inulin von Amersham Buchler GmbH & Co. KG, Braunschweig
- 6) nicht markiertes Inulin von Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim
- 7) Serva Feinbiochemica, Heidelberg

Tabelle 6: Extrazellulärraum der Muskeln

Tierart	Anzahl Muskeln n	durchschnittl. Inulinraum %	Standardabweichung
Junglämmer	22	28,91	4,83
HK-Lämmer	22	23,40	4,20
M-Lämmer	22	22,22	4,11
Ältere Schafe	34	24,18	3,14

4. Berechnung der Ergebnisse

Der für die ^{14}C -markierten Substrate MG bzw. AIB während der Inkubation (Dauer: 2 Stunden) zustande kommende Verteilungsquotient zwischen dem intrazellulären Flüssigkeits- und dem Inkubationsmedium ($[S]_i / [S]_a$) wurde als Parameter zur Beurteilung der Substrataufnahme in die Muskelzelle bzw. den Erythrozyten herangezogen.

Der intrazelluläre Flüssigkeitsanteil der Gewebeproben errechnete sich aus dem Gesamtwassergehalt der Gewebeproben minus dem extrazellulären Flüssigkeitsanteil (= Inulinraum).

Der Inulinraum ergab sich aus folgender Formel:

$$\text{Inulinraum (ml/g)} = \frac{{}^3\text{H-Aktivität (dpm)}^1/\text{g Gewebe}}{{}^3\text{H-Aktivität (dpm)}^1/\text{ml Medium}}$$

Es kann dabei vorausgesetzt werden, daß Inulin die Zellmembran nicht passiert und die Konzentrationen von Inulin im extrazellulären Raum der Proben und im Inkubationsmedium identisch sind.

Der Verteilungsquotient des jeweiligen Substrats zwischen der intrazellulären Flüssigkeit der Muskelzellen bzw. Erythrozyten und dem Inkubationsmedium ($[S]_i / [S]_a$) wurde nach folgender Formel berechnet:

$$[S]_i / [S]_a = \frac{\left[\frac{{}^{14}\text{C-Aktivität (dpm)/g Gewebe} - \text{ml Inulinraum/g Gewebe} \times {}^{14}\text{C-Aktivität (dpm)/ml Medium}}{\text{ml Wasser/g Gewebe} - \text{ml Inulinraum/g Gewebe}} \right]}{{}^{14}\text{C-Aktivität (dpm)/ml Medium}}$$

1) dpm = Zerfälle pro Minute (desintegrations per minute)

Für die Erythrozytenversuche wurde dabei zur Bestimmung der ^{14}C -Aktivität des Inkubationsmediums der durch Zugabe von eiskaltem Medium am Ende der Inkubationszeit bedingte Verdünnungsfaktor entsprechend berücksichtigt.

5. Statistik

In den Tabellen und Abbildungen sind jeweils die Mittelwerte und Standardabweichungen angegeben. Zur statistischen Auswertung der Gruppenunterschiede wurde der Mann-Whitney-U-Test (125) herangezogen.

Ferner wurde bei paarweisen Vergleichen der Wilcoxon-Test (125) zur Prüfung der Signifikanz der Unterschiede verwendet. Die Art der statistischen Auswertung wird bei den Ergebnissen jeweils angegeben.

Ergebnisse

1. Altersabhängigkeit der Aufnahme von 3-o-methylglucose (MG) in Muskelzellen und Erythrozyten

Zunächst wurde die Aufnahme von MG in die Muskelzellen von verschieden alten Lämmern (Alter: bis 7 Tage bzw. 3-4 Monate) untersucht.

Wie aus Abbildung 1 hervorgeht, wurde bei den jungen Lämmern während der 2-stündigen Inkubation signifikant mehr MG in die Muskelzellen aufgenommen als bei den älteren Tieren.

Nach Zugabe von 0,1 bzw. 0,001 I.E. Insulin zum Inkubationsmedium ließ sich die Aufnahme von MG in die Muskelzellen zudem signifikant steigern (Abb. 2). Wenn auch z.T. wegen der geringen Anzahl der zur Verfügung stehenden Tiere eine statistische Auswertung der Ergebnisse nicht durchgeführt werden konnte, so übertrafen doch bei allen Lämmern die Verteilungsquotienten von MG zwischen der intrazellulären Flüssigkeit und dem Medium nach Zugabe von Insulin zum Medium die jeweiligen Kontrollwerte. Es zeigte sich, daß durch die Zugabe von 0,001 I.E. zum Inkubationsmedium die Aufnahme von MG in die Muskelzellen der Junglämmer deutlicher gesteigert werden konnte als bei den älteren Lämmern.

Bei höherer Insulinkonzentration trat dieser Unterschied nicht mehr in Erscheinung.

Abb. 1: Einfluß des Alters auf die Aufnahme von 3-o-methylglucose (5 mM) in die Muskelzellen von Junglämmern (bis 7 Tage alt) und älteren Lämmern (3-4 Monate alt)

n = Anzahl der Tiere
 1_j = Mann-Whitney-U-Test

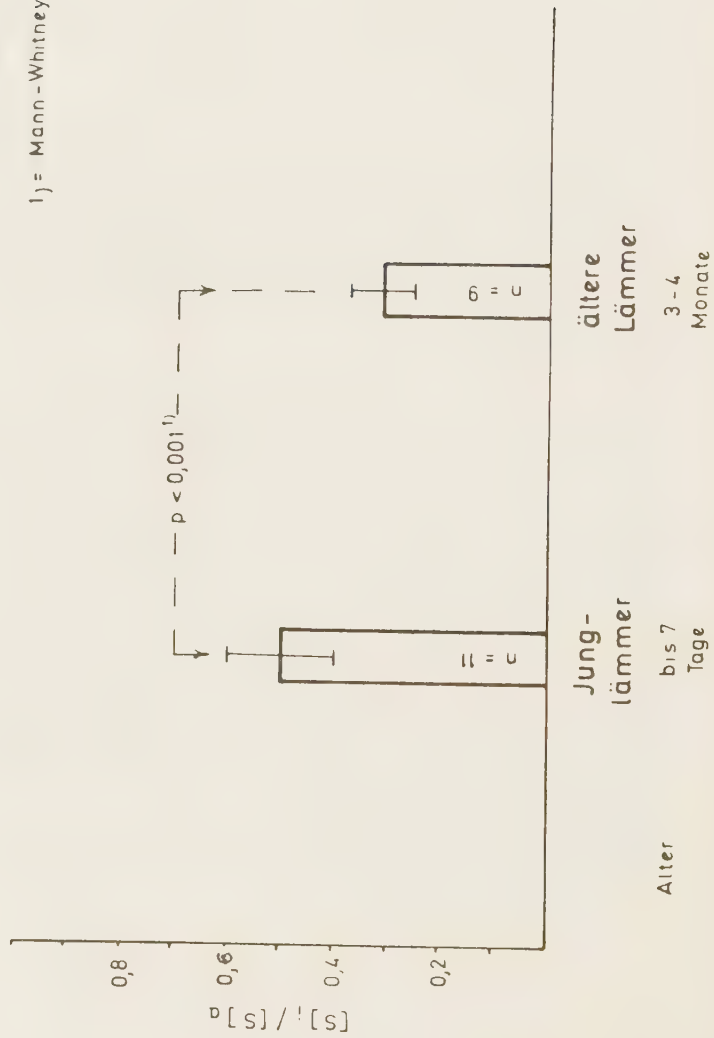


Abb. 2: Einfluß von Insulin (0,1 bzw. 0,001 I.E./ml) auf die Aufnahme von 3-o-methylglucose (5 mM) in die Muskelzellen von Junglämmern (bis 7 Tage alt) und älteren Lämmern (3-4 Monate alt). (Absolutwerte der Kontrollen siehe Abb.1)

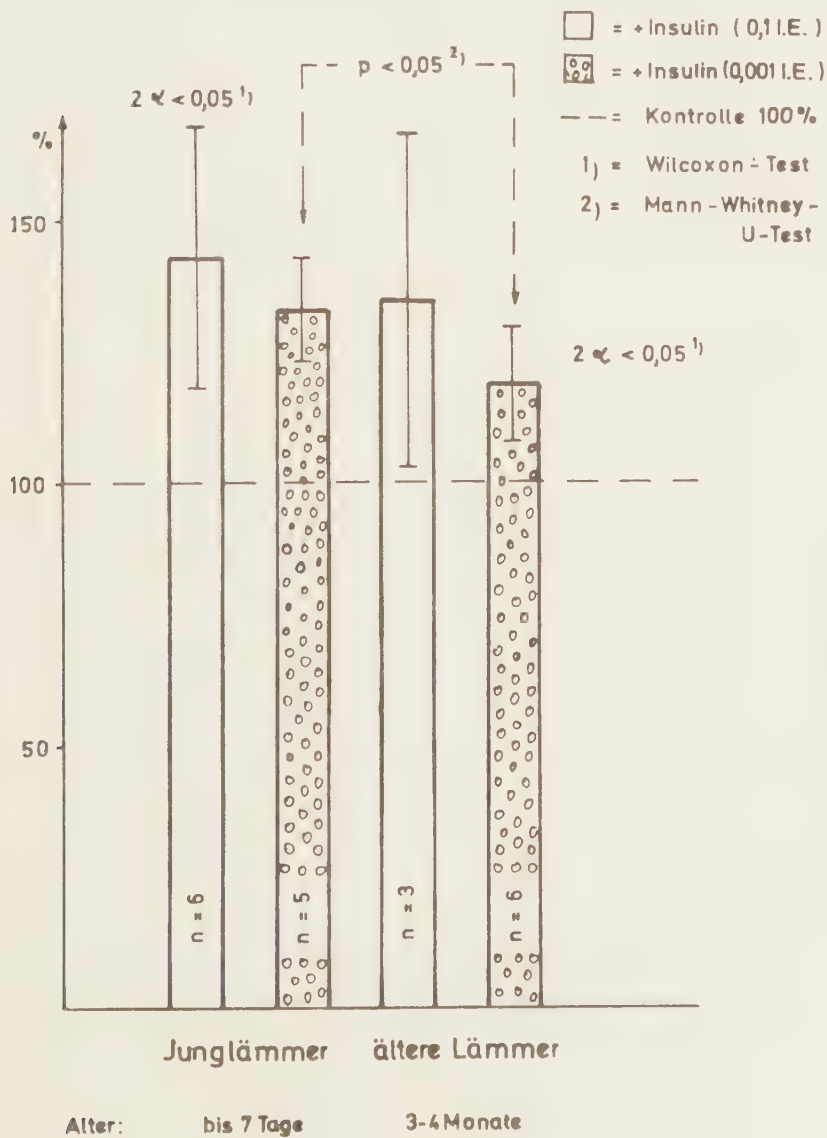
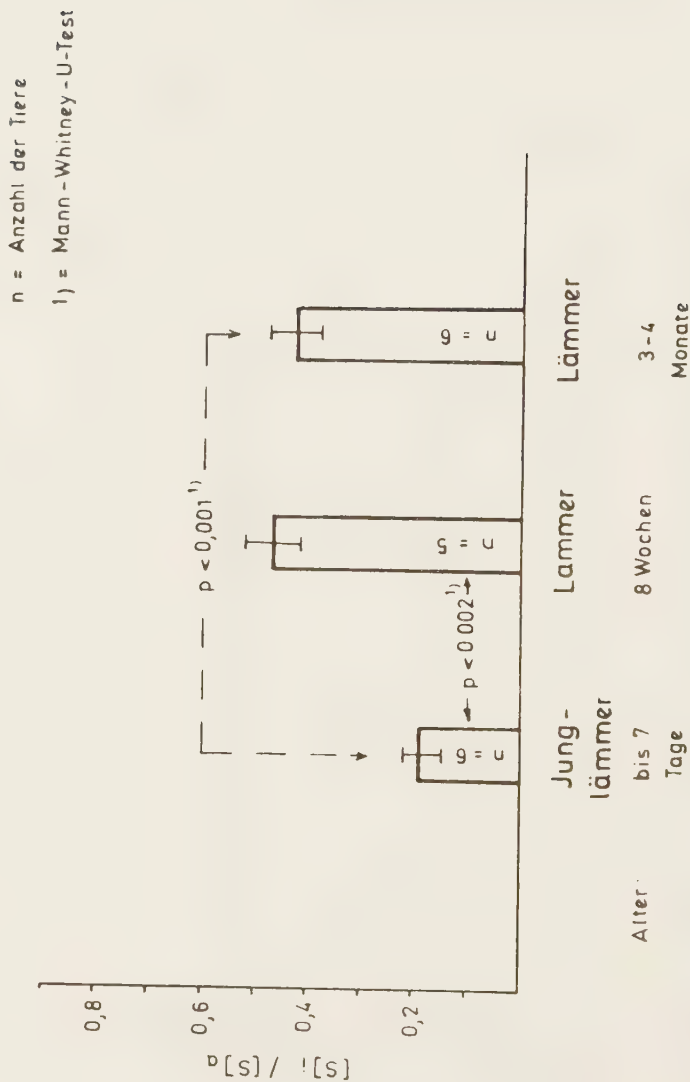


Abb. 3: Einfluß des Alters auf die Aufnahme von 3-o-methylglucose (5 mM) in Erythrozyten von Junglämmern (7 Tage alt), 8 Wochen alten Lämmern und 3-4 Monate alten Lämmern



- - -

In analogen Versuchen wurde auch die Aufnahme von MG in die Erythrozyten verschieden alter Lämmer (Alter: bis 7 Tage, 8 Wochen und 3-4 Monate) untersucht.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Abbildung 3 dargestellt.

Die Erythrozyten der Junglämmer nahmen dabei deutlich weniger MG auf als die Erythrozyten der 8-Wochen bzw. 3-4 Monate alten Lämmer. Zwischen den beiden letztgenannten Gruppen ergab sich kein diesbezüglicher Unterschied.

2. Altersabhängigkeit der Aufnahme von α -Aminoisobuttersäure (AIB) in die Muskelzellen und Erythrozyten.

Der Einfluß des Alters auf die Aufnahme von AIB in die Muskelzellen wurde an 3 Gruppen von Schafen unterschiedlichen Alters geprüft: Junglämmer (Alter: bis 7 Tage), ältere Lämmer (Alter: 3-4 Monate) und Schafe (Alter: ca. 1 Jahr).

Mit zunehmendem Alter verringerte sich die Aufnahme von AIB in die Muskelzelle deutlich (Abb. 4).

Bei Junglämmern (Alter: bis 7 Tage) und älteren Lämmern (Alter: 3-4 Monate) ließ sich die Aufnahme von AIB in die Muskelzellen durch Insulin erhöhen (Abb.5).

Das unterschiedliche Alter dieser beiden Lammgruppen hatte jedoch auf die Höhe des Insulineffektes keinen Einfluß.

Zusätzlich wurde untersucht, ob Glukagon, das in vielerlei Hinsicht als Antagonist zu Insulin angesehen werden kann, die AIB-Aufnahme in die Muskelzellen verschieden alter Schafe (Alter: ca. 1/2 bzw. 1 Jahr) beeinflusst.

Abb. 4: Einfluß des Alters auf die Aufnahme von AIB (0,5 mM) in die Muskelzellen von Junglämmern (bis 7 Tage alt) älteren Lämmern (3-4 Monate alt) und ca. 1 Jahr alten Schafen

n = Anzahl der Tiere

f_j = Mann-Whitney-U-Test

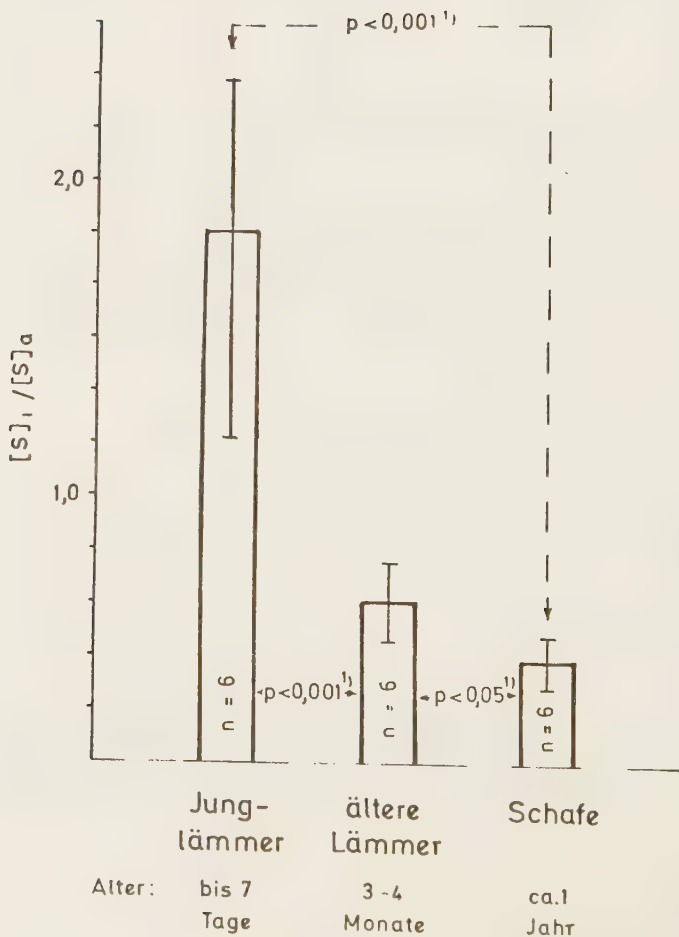


Abb. 5: Einfluß von Insulin (0,001 I.E./ml) auf die Aufnahme von AIB (0,5 mM) in die Muskelzellen von Junglämmern (bis 7 Tage alt) und älteren Lämmern (3-4 Monate alt). (Absolutwerte der Kontrollen siehe Abb. 4)

n = Anzahl der Tiere

-- = Kontrolle 100 %

1) = Wilcoxon - Test



Abb. 6: Einfluß von Glukagon (0,005 mM/ml) auf die Aufnahme von AIB (0,065 bzw. 0,5 mM) in die Muskelzellen von 1/2 Jahr alten Schafen und Altschafen (ca. 1 Jahr alt)

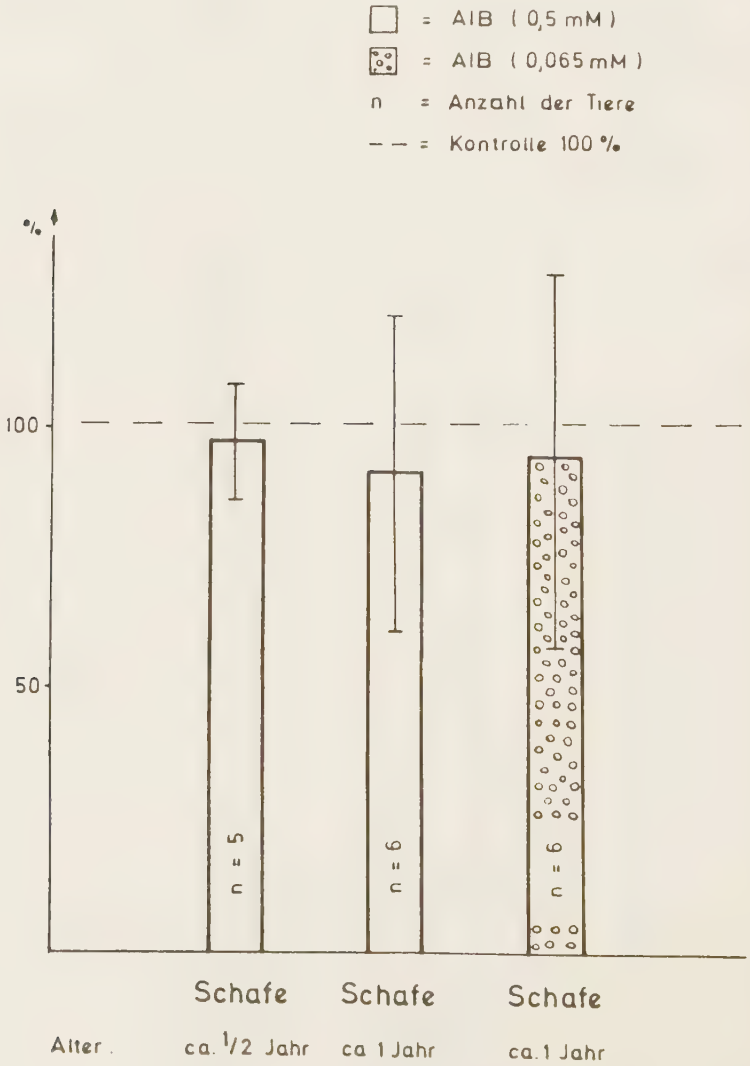
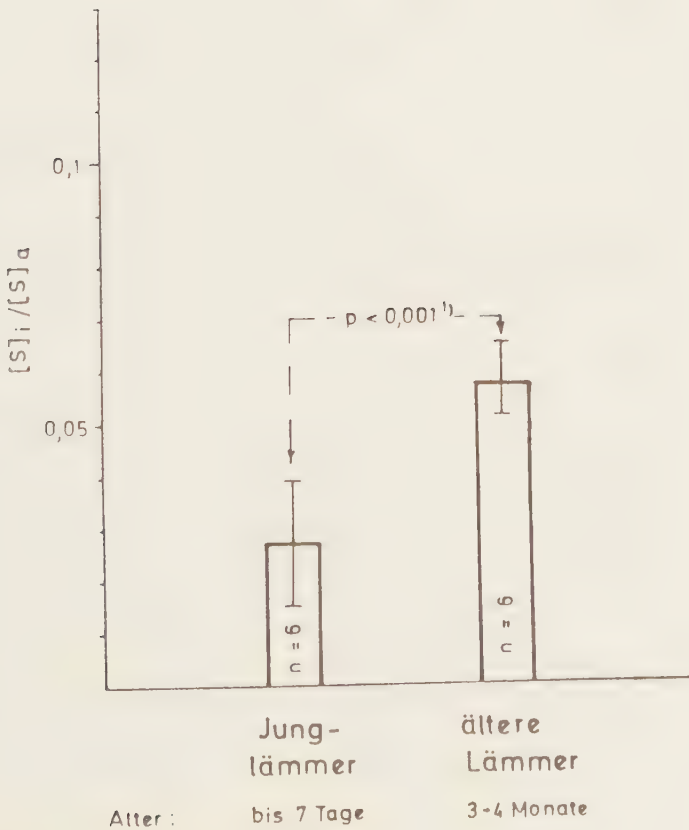


Abb. 7: Einfluß des Alters auf die Aufnahme von AIB (0,5 mM) in Erythrozyten von Junglämmern (bis 7 Tage alt) und älteren Lämmern (3-4 Monate alt)

n = Anzahl der Tiere

I_1 = Mann-Whitney-U-Test



Bei beiden untersuchten Altersgruppen ließ sich kein Einfluß von Glukagon auf die AIB-Aufnahme in die Muskelzellen sichern (Abb. 6).

Die Aufnahme von AIB in Erythrozyten von Junglämmern (Alter: bis 7 Tage) und älteren Lämmern (Alter: 3-4 Monate) differierte erheblich (Abb.7).

Die Erythrozyten der älteren Lämmer nahmen signifikant mehr AIB auf als die Erythrozyten der Junglämmer. Bei beiden Versuchsgruppen wurden jedoch relativ geringe Verteilungsquotienten von AIB zwischen der intrazellulären Flüssigkeit und dem Medium erhalten.

3. Aufnahme von MG in die Muskelzellen und Erythrozyten von Lämmern mit unterschiedlicher Vormagenentwicklung.

Die Ergebnisse der Versuche über die Altersabhängigkeit der Aufnahme von MG in die Muskelzellen und Erythrozyten gaben Anlaß zu untersuchen, ob die festgestellten unterschiedlich hohen Aufnahmeraten für MG bei verschiedenen alten Lämmern ausschließlich altersbedingt sind oder mit dem Vorhandensein eines funktionsfähigen Vormagensystems bei den älteren Lämmern in Zusammenhang stehen.

Es wurden daher entsprechende Untersuchungen an isolierten Kehlkopfmuskeln und Erythrozyten gleichaltriger Lämmer durchgeführt, die fütterungsbedingte deutliche Unterschiede in der Vormagenentwicklung aufwiesen.

Als Index für die Entwicklung des Vormagensystems diente das Naßgewicht der Vormägen (Tab. 7).

In Abbildung 8 sind die MG-Verteilungsquotienten zwischen der intra- und extrazellulären Flüssigkeit der Muskelzellen von gleichaltrigen Lämmern mit fütterungsbeding-

ter unterschiedlicher Vormagenentwicklung (HK- und M-Lämmern, Alter: 3-4 Monate) sowie von Junglämmern (Alter: bis 7 Tage) dargestellt.

Zwischen den HK- und M-Lämmern ergab sich bezüglich der Aufnahme von MG in die Muskelzellen kein Unterschied. Die Verteilungsquotienten für MG lagen jedoch bei den HK- und M-Lämmern deutlich niedriger als bei den Junglämmern. Offensichtlich hat somit die Vormagenentwicklung unter den angegebenen Bedingungen keinen Einfluß auf die Aufnahme von MG in die Muskelzellen.

Die Zugabe von Insulin führte bei den HK- bzw. M-Lämmern sowie bei den Junglämmern zu einer Steigerung der Aufnahme von MG in die Muskelzellen, wobei die jeweiligen Kontrollwerte bei allen Tieren von den Versuchswerten (+0,001 I.E. Insulin/ml) übertroffen wurden (Abb.9).

Jedoch konnte auch hier kein Einfluß der Vormagenentwicklung auf die Größe des Insulineffekts festgestellt werden. Es ergab sich lediglich bei den Junglämmern ein deutlicherer Insulineffekt als bei den älteren Lämmern (siehe auch S.23).

Ergebnisse analoger Versuche mit Erythrozyten sind in den Abbildungen 10 und 11 dargestellt.

Die unterschiedliche Ausbildung des Vormagensystems beeinflusste die Aufnahme von MG in die Erythrozyten ebenfalls nicht (Abb. 10). Gegenüber den Junglämmern war jedoch bei den HK- und M-Lämmern eine deutlich höhere Aufnahme von MG in die Erythrozyten zu registrieren.

Die Zugabe von 0,001 I.E. Insulin zum Inkubationsmedium hatte auf die Aufnahme von MG in die Erythrozyten

Abb. 8 Aufnahme von β -o-methylglucose (5 mM) in die Muskelzellen von Junglämmern (1-7 Tage alt) sowie von mit Milch (M) bzw. zusätzlich mit Heu und Kraftfutter (HK) gefütterten Lämmern (3-4 Monate alt)

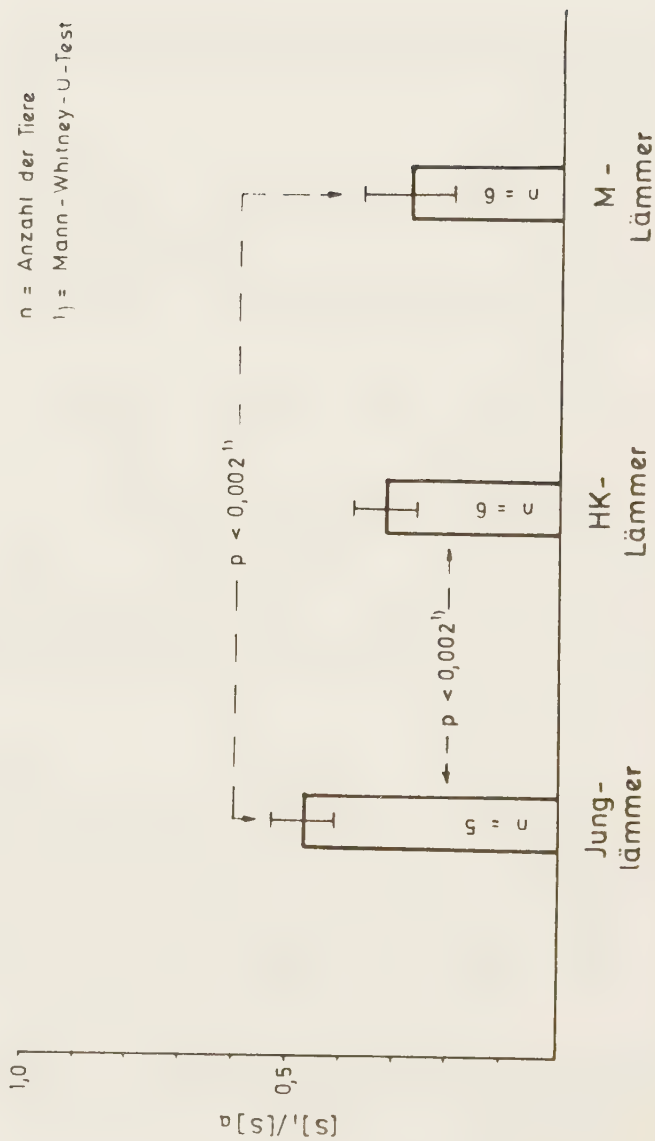


Abb. 9: Einfluß von Insulin (0,001 I.E./ml) auf die Aufnahme von 3-o-methylglucose (5 mM) in die Muskelzellen von Junglämmern (bis 7 Tage alt) sowie von mit Milch (M) bzw. zusätzlich mit Heu und Kraftfutter (HK) gefütterten Lämmern. (Absolutwerte der Kontrollen siehe Abb.8)

n = Anzahl der Tiere

1_j = Mann-Whitney-U-Test

2_j = Wilcoxon-Test

--- = Kontrolle 100 %

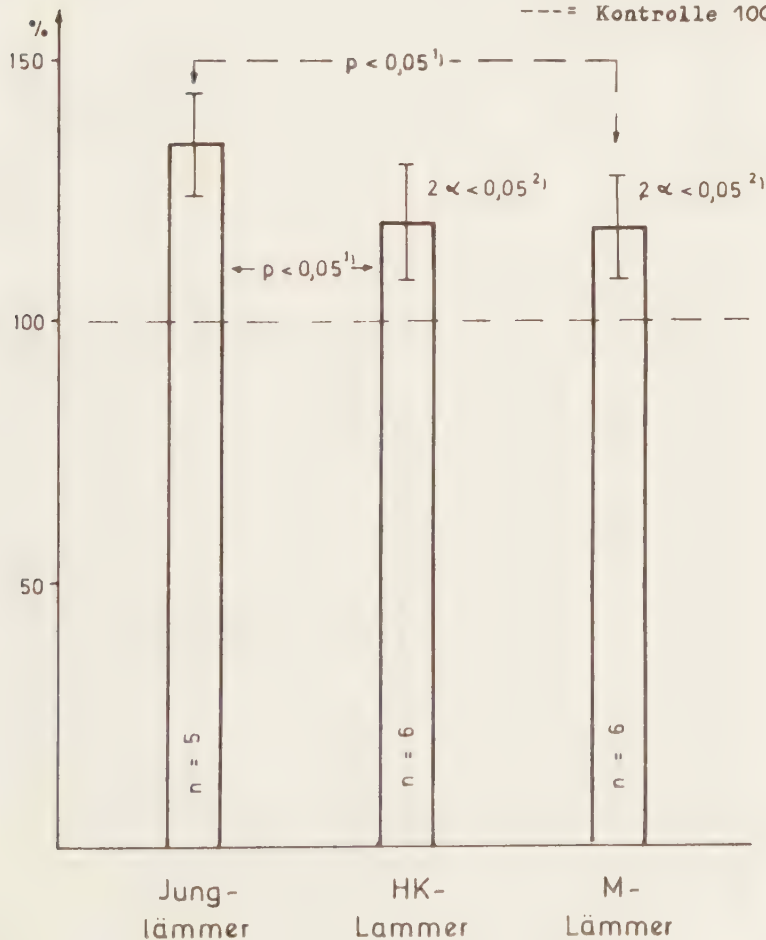


Abb. 10: Aufnahme von 3-o-methylglucose (5 mM) in Erythrozyten von Junglämmern (7 Tage alt) sowie von 3-4 Monate alten mit Milch (M) bzw. zusätzlich mit Heu und Kraftfutter (HK) gefütterten Lämmern

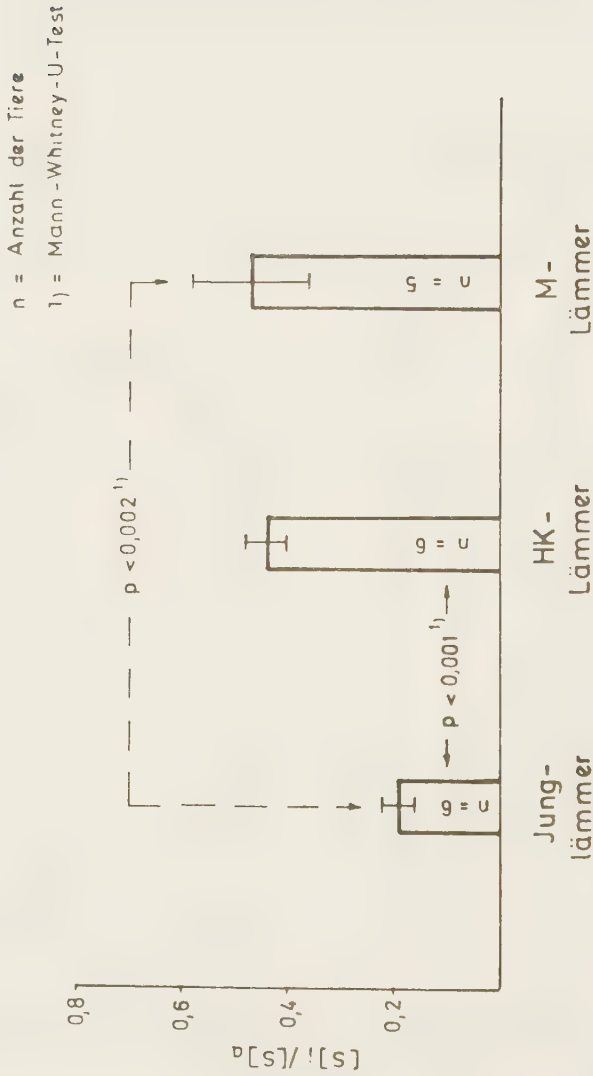
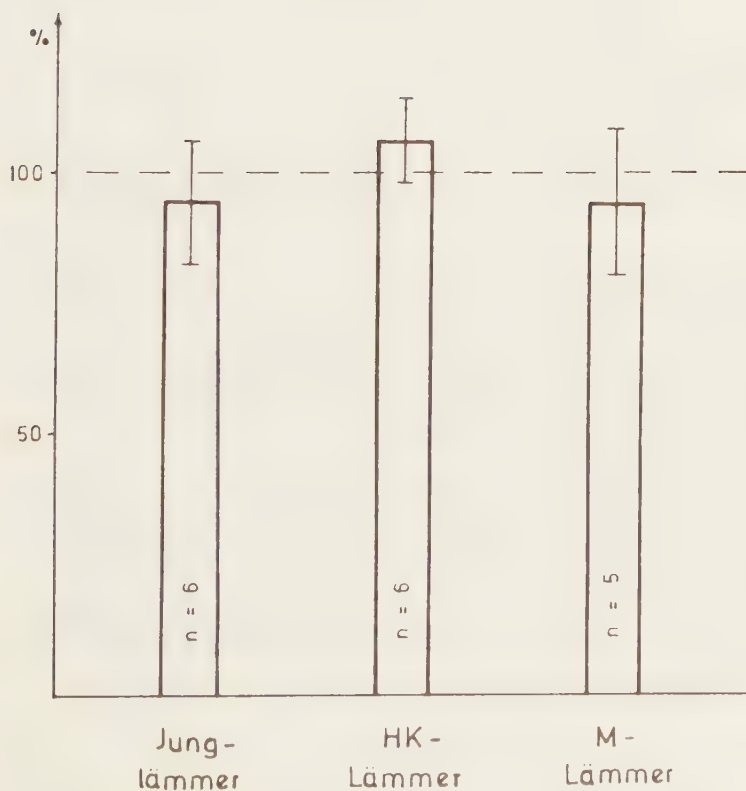


Abb.11: Einfluß von Insulin (0,001 I.E./ml) auf die Aufnahme von 3-o-methylglucose (5 mM) in Erythrozyten von Junglämmern (7 Tage alt) sowie von mit Milch (M) bzw. zusätzlich mit Heu und Kraftfutter (HK) gefütterten Lämmern (3-4 Monate alt). (Absolutwerte der Kontrollen siehe Abb. 10)

n = Anzahl der Tiere

--- Kontrolle 100 %



von Junglämmern sowie HK- und M-Lämmern keinen Einfluß (Abb. 11).

Tabelle 7: Naßgewichte der Vormägen von Lämmern mit unterschiedlicher Vormagenentwicklung (Alter: 3-4 Monate)

Fütterung	Gewicht der gefüllten Vormägen (g)	Gewicht der entleerten Vormägen (g)
Heu- und Kraftfutter (Gruppe HK)	6323 $\pm$ 2310	786 $\pm$ 168
Milchaustauscher (Gruppe M)	2264 $\pm$ 826	440 $\pm$ 147

4. Aufnahme von AIB in die Muskelzellen und Erythrozyten von Lämmern mit unterschiedlicher Vormagenentwicklung.

Da das Alter die Aufnahme von AIB in die Muskelzellen und Erythrozyten beeinflusste (siehe S.27,32), wurde analog zu den MG-Transportstudien auch geprüft, ob die mit der Vormagenentwicklung einhergehende Umstellung des intermediären Stoffwechsels die AIB-Aufnahme in die Muskelzellen und Erythrozyten beeinflusst.

Für die Versuche standen abermals gleichaltrige Lämmer (Alter: 3-4 Monate), die fütterungsbedingte Unterschiede in der Vormagenentwicklung aufwiesen (HK- und M-Lämmer) zur Verfügung.

Die Naßgewichte der Vormägen der HK- und M-Lämmer dienten auch hier als Index für das Ausmaß der Vormagenentwicklung (Tab. 8).

Die entsprechenden Ergebnisse sind in den Abbildungen 12-15 dargestellt. Zum Vergleich sind in den Abbildungen auch die für Junglämmer (Alter: 1 bis 7 Tage) erhaltenen entsprechenden Ergebnisse aufgeführt.

Wie den Abbildungen 12 und 14 zu entnehmen ist, hatte die Vormagenentwicklung keine Auswirkungen auf die AIB-Aufnahme in die Muskelzellen und Erythrozyten.

Am gleichen Tiermaterial wurde auch geprüft, inwieweit Insulin (0,001 I.E./ml) die AIB - Aufnahme in die Muskelzellen und Erythrozyten beeinflusst.

Wie aus Abbildung 13 zu ersehen ist, wurde bei allen Tiergruppen die Aufnahme von AIB in die Muskelzellen durch Insulin gesteigert. Bei allen Tieren der 3 Gruppen lagen die Versuchswerte jeweils über den Kontrollwerten (+ 0,001 I.E. Insulin/ml).

Ein Einfluß der Vormagenentwicklung auf den Insulineffekt konnte jedoch ausgeschlossen werden, da zwischen HK- und M-Lämmern kein Unterschied in der durch Insulin bewirkten Steigerung der AIB-Aufnahme bestand. Auch bei den Junglämmern lag der Insulineffekt in gleicher Höhe wie bei den M- und HK-Lämmern.

Was die AIB-Aufnahme in Erythrozyten anbetrifft, so ergaben sich im Vergleich zu den M- und HK-Lämmern bei den Junglämmern sehr viel niedrigere Werte (Abb. 14). Zwischen den M- und HK-Lämmern waren dagegen keine Unterschiede zu registrieren.

Abb.12: Aufnahme von AIB (0,5 mM) in die Muskelzellen von Junglämmern (bis 7 Tage alt) sowie von mit Milch (M) bzw. zusätzlich mit Heu und Kraftfutter (HK) gefütterten Lämmern (3-4 Monate alt)

n = Anzahl der Tiere

1_j = Mann-Whitney-U-Test

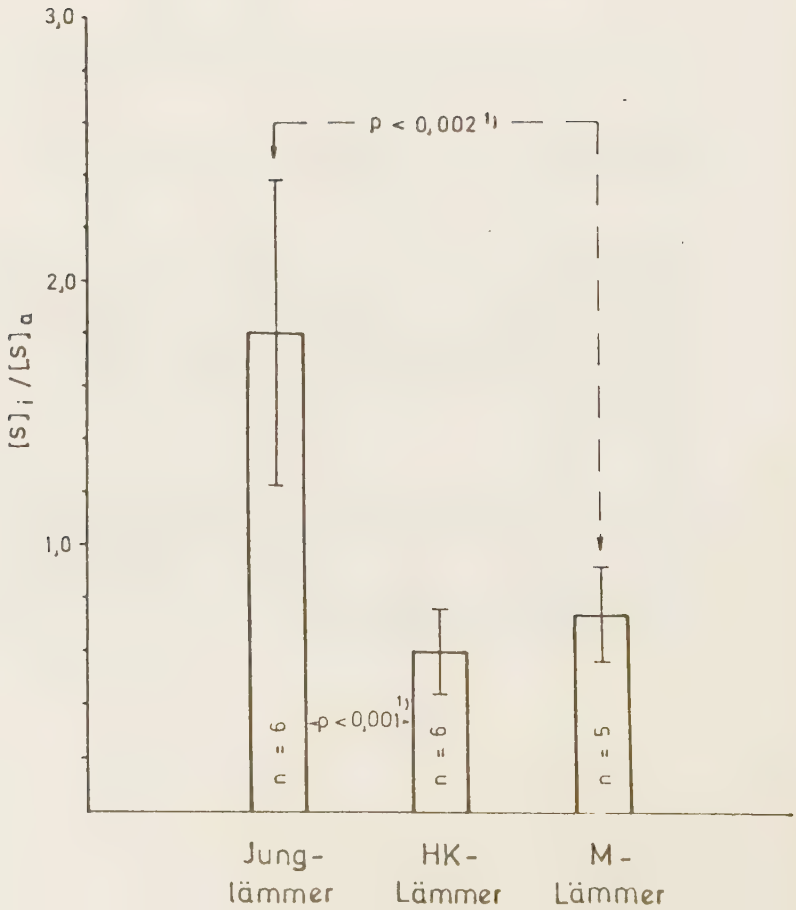


Abb.13: Einfluß von Insulin (0,001 I.E./ml) auf die Aufnahme von AIB (0,5 mM) in die Muskelzellen von Junglämmern (bis 7 Tage alt) sowie von mit Milch (M) bzw. zusätzlich mit Heu und Kraftfutter (HK) gefütterten Lämmern (3-4 Monate alt). (Absolutwerte der Kontrollen siehe Abb. 12)

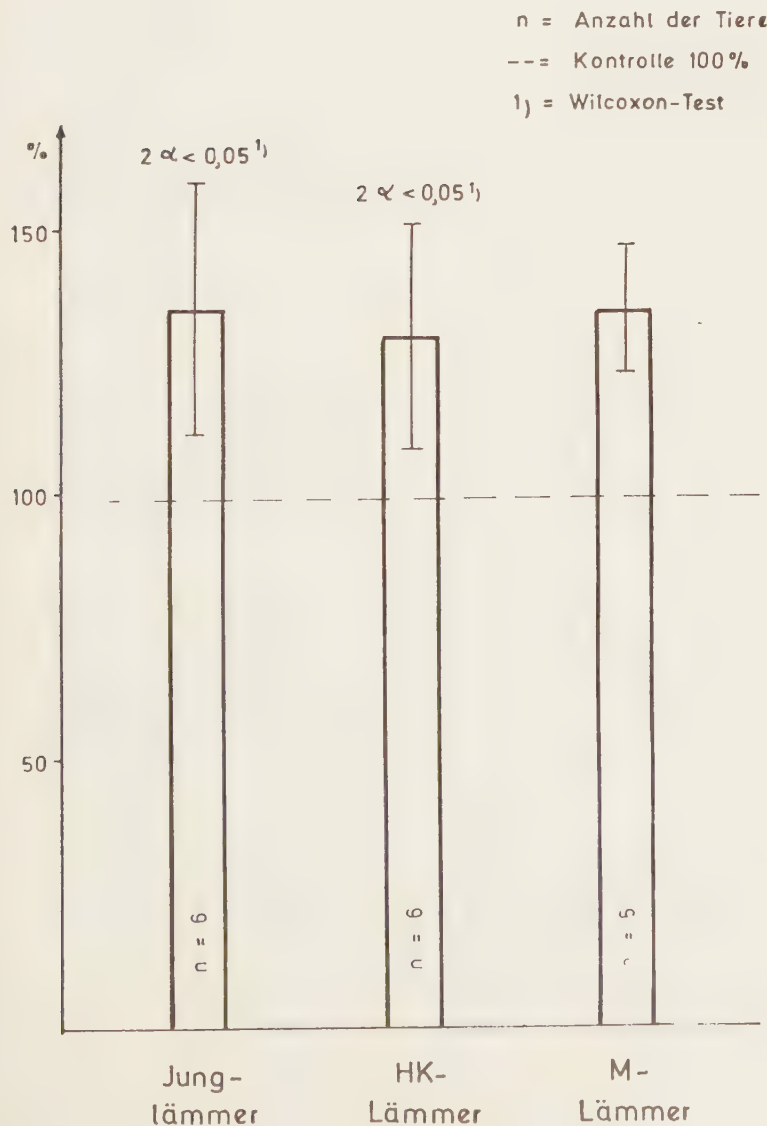


Abb. 14: Aufnahme von AIB (0,5 mM) in Erythrozyten von Junglämmern (7 Tage alt) sowie von mit Milch (M) bzw. zusätzlich mit Heu und Kraftfutter (HK) gefütterten Lämmern (3-4 Monate alt)

n = Anzahl der Tiere
f₁ = Mann-Whitney-U-Test

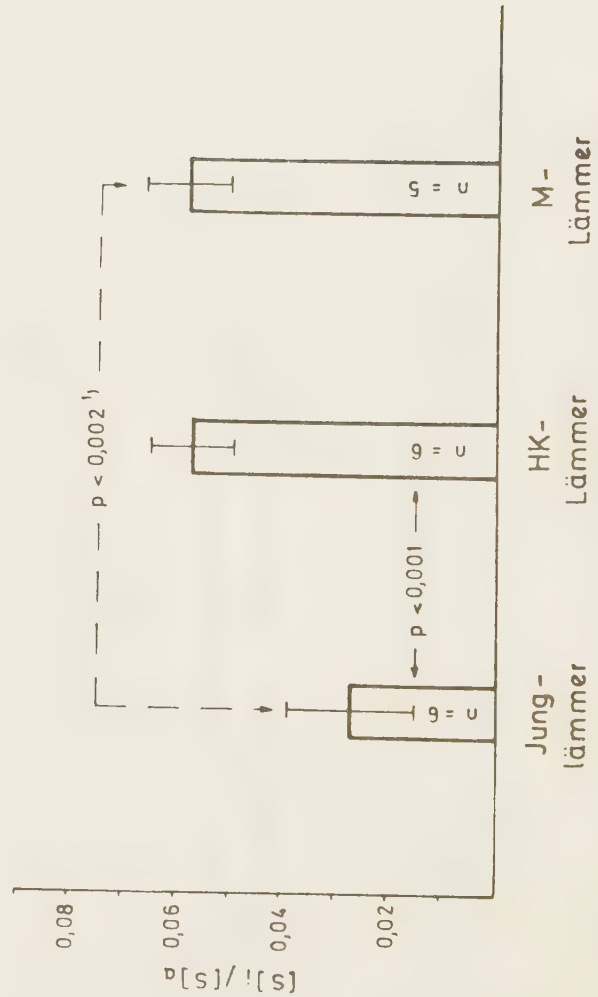
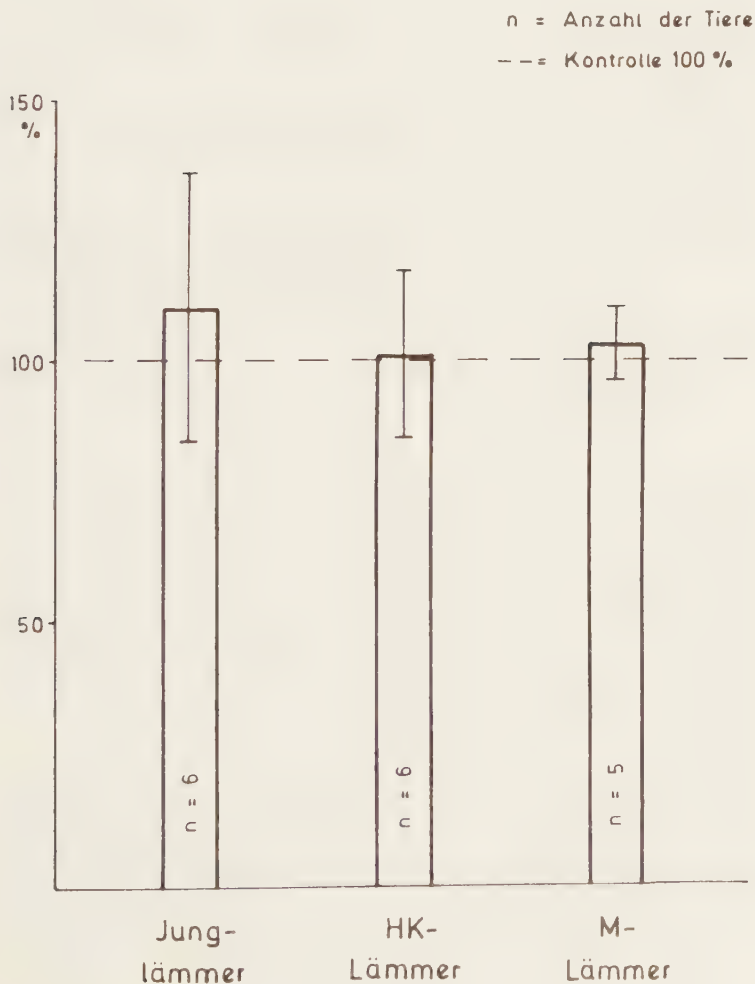


Abb.15: Einfluß von Insulin (0,001 I.E./ml) auf die Aufnahme von AIB (0,5 mM) in Erythrozyten von Junglämmern (7 Tage alt) sowie von mit Milch (M) bzw. zusätzlich mit Heu und Kraftfutter (HK) gefütterten Lämmern (3-4 Monate alt). (Absolutwerte der Kontrollen siehe Abb. 14)



Die Zugabe von 0,001 I.E. Insulin/ml zum Inkubationsmedium führte bei keiner der 3 untersuchten Tiergruppen zu einer Veränderung der AIB-Aufnahme in die Erythrozyten (Abb. 15).

Hervorzuheben ist in diesem Zusammenhang, daß sehr viel weniger AIB als MG in die Erythrozyten aufgenommen wurde.

Tabelle 8: Naßgewichte der Vormägen von Lämmern mit unterschiedlicher Vormagenentwicklung (Alter: 3-4 Monate)

Fütterung	Gewicht der gefüllten Vormägen (g)	Gewicht der entleerten Vormägen (g)
Heu- und Kraftfutter (Gruppe HK)	6957 $\pm$ 1030	793 $\pm$ 104
Milchaustauscher (Gruppe M)	3336 $\pm$ 1431	406 $\pm$ 129

Diskussion

Es ist bekannt, daß bei Monogastriern in Insulin-sensitiven Geweben, wie z.B. im Muskel- und Fettgewebe, die Glucoseaufnahme in die Zellen den Glucosestoffwechsel limitiert (15, 24, 26, 76, 77, 79, 81, 89, 90, 92, 102). Der Glucosestoffwechsel dieser Gewebe wird daher durch die Glucosepermeabilität der Zellmembran reguliert. Die im Muskel und Fettgewebe durch Insulin hervorgerufene Stimulierung der Glucoseutilisation ist daher in erster Linie auf eine Erhöhung der Glucose-Permeabilität der Zellmembran zurückzuführen (10, 12, 33, 35, 36, 38, 63, 65, 84, 87, 89, 92, 93, 120).

Demgegenüber begrenzt beim Monogastrier die Glucosepermeabilität der Zellmembran von Insulin-insensitiver Zellen, wie z.B. von Erythrozyten und Leberzellen, die Glucoseutilisation nicht (28).

Da beim Wiederkäuer die Glucoseutilisationsrate, die Glucosetoleranz sowie der Blutglucosespiegel mit zunehmendem Alter bzw. fortschreitender Vormagenentwicklung abzunehmen scheint (3, 27, 37, 45, 46, 47, 48, 56, 58, 73, 74, 81, 95, 96, 97, 98, 123), wurde in den vorliegenden Untersuchungen geprüft, wie sich beim Lamm das Alter und die Vormagenentwicklung auf die Monosaccharidaufnahme in die Muskelzelle sowie in den Erythrozyten auswirken.

Als Modellssubstrat wurde 3-o-methylglucose (= MG) verwendet. Dieser Zucker konkurriert mit Glucose um das gleiche Transportsystem der Zellmembran, wird jedoch im Gegensatz zu Glucose nicht metabolisiert (14, 43, 53, 84, 86, 115).

Deshalb kann bei Verwendung dieses Substrates der Transport durch die Zellmembran unabhängig vom Stoffwechsel untersucht werden. In diesem Zusammenhang ist noch anzuführen, daß Glucose und strukturverwandte Monosaccharide durch erleichterte Diffusion in die Muskelzelle sowie in den Erythrozyten gelangen (6, 14, 23, 25, 28, 33, 49, 53, 54, 57, 59, 61, 62, 64, 75, 77, 79, 80, 81, 83, 84, 85, 89, 94, 103, 109, 116).

Aminosäuren können jedoch gegen ein Konzentrationsgefälle, d.h. durch aktiven Transport, in die Muskelzelle aufgenommen werden (5, 7, 16, 18, 19, 30, 34, 39, 50, 52, 70, 85, 102), während der Übertritt von Aminosäuren in den Erythrozyten durch erleichterte Diffusion zu erfolgen scheint (28, 31, 99, 119).

Ebenso wie bei Glucose und strukturverwandten Hexosen kann auch die Aufnahme von bestimmten Aminosäuren (Prolin, Glycin, α -Aminoisobuttersäure u.a.) in die Muskelzelle durch Insulin stimuliert werden (1, 2, 7, 29, 30, 34, 39, 41, 50, 52, 68, 69, 85, 105, 121, 122).

Aufgrund dieser Zusammenhänge wurde zum Vergleich auch der Aminosäuretransport in die Untersuchungen einbezogen. Für diese Versuche diente die nichtmetabolisierbare α -Aminoisobuttersäure (=AIB) als Modellsubstrat (19, 50, 86). Insbesondere interessierte auch, ob sich Altersunterschiede bzw. Unterschiede in der Vormagenentwicklung beim Lamm verschiedenartig auf die Insulinsensitivität der Monosaccharid- und Aminosäureaufnahme in die Muskelzellen auswirken.

Wie den Ergebnissen der Versuche entnommen werden kann, ist beim Wiederkäuer die Aufnahme von MG in die Muskel-

zelle in hohem Maße altersabhängig. So nahmen die Muskelzellen bei den Junglämmern (Alter: bis 7 Tage) deutlich mehr MG auf als die Muskelzellen älterer Lämmer (Alter: 2-4 Monate).

In Einklang mit den Ergebnissen unserer Versuche stehen die von Fricke und Clark (34) am isolierten Rattenzwerchfell erhobenen Befunde.

Auch diese Autoren registrierten einen Rückgang der Monosaccharidaufnahme in die Muskelzelle mit fortschreitendem Alter.

Die Versuche mit 3-4 Monate alten Lämmern, deren Vormagenentwicklung fütterungsbedingte Unterschiede aufwies (HK- und M-Lämmer) ergaben ferner, daß die Muskelzellen bei beiden Lämmergruppen etwa gleich viel MG aufnahmen. Die MG-Aufnahme in die Muskelzellen ist somit nicht von der Vormagenentwicklung abhängig.

Es ist naheliegend, den altersbedingten Abfall der MG-Aufnahme in die Muskelzellen bei Lämmern mit der Glucoseutilisationsrate in Verbindung zu bringen, da die Glucoseutilisation in der Muskulatur, wie zahlreiche Untersuchungen bei der Ratte ergeben haben, durch die Monosaccharid - (Glucose-) Permeabilität der Zellmembran determiniert wird (4, 8, 15, 34, 49, 51, 77, 79, 88, 90).

Bekanntlich nimmt die Glucoseutilisationsrate des Gesamtorganismus beim Lamm mit fortschreitendem Alter ab (4, 27, 45, 46, 47, 48, 56, 58, 71, 73, 95, 96). Dies dürfte vor allem auf einem Rückgang der Glucoseutilisation der Muskulatur beruhen, da die Muskulatur in quantitativer Hinsicht diesbezüglich von allen Geweben die größte Rolle spielt. Als kausaler Faktor für diesen Rückgang der Glucoseutilisationsrate kommt nach unseren Befunden auch beim Lamm eine altersbedingte Verringerung der Glucosepermeabilität der Muskelzellmembran in Betracht.

Was den Einfluß der Vormagenentwicklung auf die Glucoseutilisation bei gleichaltrigen Lämmern betrifft, so liegen bislang entsprechende Untersuchungen nicht vor. Aufgrund unserer bei den M- und HK-Lämmern erhaltenen Ergebnisse dürfte sich die Vormagenentwicklung auf die Glucoseutilisation der Muskulatur nicht auswirken, falls die Glucoseutilisation auch in diesem Fall durch die Glucosepermeabilität der Zellmembran limitiert wird. Nach Befunden von Stern et. al (110), ergibt sich nach einer Insulininjektion bei neugeborenen Lämmern ein stärkerer Abfall des Blutglucosespiegels als bei älteren Lämmern und erwachsenen Schafen. Auch in unseren Versuchen stimulierte Insulin die MG-Aufnahme in die Muskelzelle bei den neugeborenen Lämmern stärker als bei den 3-4 Monate alten Lämmern. Damit dürfte der im Vergleich zu älteren Lämmern und Schafen bei neugeborenen Lämmern zu verzeichnende stärkere Blutzuckerabfall nach einer Insulininjektion auf einer entsprechend größeren Zunahme der Glucosepermeabilität der Zellmembran beruhen. Da Insulin in unseren Versuchen die MG-Aufnahme in die Muskelzelle bei M- und HK-Lämmern in gleichem Umfang stimulierte, dürfte die Insulinsensitivität des transmembranalen Monosaccharidtransports in der Muskulatur durch die Vormagenentwicklung nicht beeinflußt werden.

Im Gegensatz zur Muskelzelle nahmen Erythrozyten neugeborener Lämmer in unseren Versuchen weniger MG auf als Erythrozyten älterer Lämmer. Die Vormagenentwicklung übte auch auf die MG-Aufnahme von Erythrozyten keinen Einfluß aus. Analoges gilt auch für die AIB-Aufnahme.

In diesem Zusammenhang ist darauf hinzuweisen, daß sich foetale Erythrozyten, die im Blut neugeborener Lämmer

noch in großer Zahl vorhanden sind, und postnatale Erythrozyten in vielerlei Hinsicht unterscheiden (100). Dies scheint auch für die Erythrozytenmembran zuzutreffen. So weisen foetale Erythrozyten z.B. eine höhere osmotische Resistenz auf als postnatale Erythrozyten (91). Aufgrund dieser Umstände ist es naheliegend, daß zwischen foetalen und postnatalen Erythrozyten auch Unterschiede in den Permeabilitätseigenschaften bestehen. Ein Einfluß von Insulin auf die MG- und AIB-Aufnahme der Erythrozyten konnte in unseren Versuchen nicht festgestellt werden. Dies deckte sich mit Befunden anderer Autoren (28).

AIB kann, wie unsere Versuche zeigen, im Gegensatz zu MG gegen ein Konzentrationsgefälle in die Muskelzelle aufgenommen werden. Die Muskelzellen von Junglämmern (Alter: bis 7 Tage) akkumulierten in unseren Versuchen bedeutend mehr als die Muskelzellen von älteren Lämmern.

Dieser Unterschied dürfte nicht mit der Vormagenentwicklung in Zusammenhang stehen, sondern altersbedingt sein, da bei gleichaltrigen (Alter: 3-4 Monate) Lämmern, die, bedingt durch verschiedenartige Fütterung, ausgeprägte Unterschiede in der Vormagenentwicklung aufwiesen, AIB in gleichem Umfang in die Muskelzelle aufgenommen wurde. Auch bei der Ratte wurde für die Muskulatur eine reziproke Beziehung zwischen dem Alter und dem Aminosäuretransport gefunden (16, 30, 34).

Es ist naheliegend, den altersbedingten Rückgang der AIB-Aufnahme in die Muskelzelle mit dem mit fortschreitendem Alter sich verringernden Proteinansatzvermögen in Verbindung zu bringen, zumal der Aminosäuretransport mit der Proteinsynthese in Beziehung zu stehen scheint (1, 69, 82).

Auf welche Faktoren die altersbedingte Abnahme der Aminosäuretransportaktivität der Muskelzellmembran im einzelnen zurückzuführen ist, ist unbekannt.

Insulin (0,001 I.E./ml) stimulierte in unseren Versuchen die AIB-Aufnahme in die Muskelzelle bei neugeborenen Lämmern (Alter: 1-7 Tage) und 3-4 Monate alten Lämmern mit fütterungsbedingtem Unterschied in der Vormagenentwicklung im etwa gleichen Umfang.

Nach unseren Ergebnissen scheint somit Insulin auch beim Wiederkäuer an der Regulation der Aminosäureaufnahme in die Muskelzelle beteiligt zu sein.

Offenbar wirkt sich die mit der Vormagenentwicklung einhergehende Stoffwechselumstellung auf die Insulinsensitivität des transmembranalen Aminosäuretransports der Muskelzelle nicht aus.

Die die Aminosäureaufnahme in die Muskelzelle betreffenden bisher diskutierten Ergebnisse decken sich im wesentlichen mit den Ergebnissen von Blatt (9), der allerdings mit einer niedrigeren Substratkonzentration (AIB-Konzentration: 0,065 mM; eigene Versuche: 0,5 mM) arbeitete.

Lediglich bezüglich des Effektes von Glukagon auf die Aminosäureaufnahme in die Muskelzelle scheinen die eigenen Ergebnisse von den Befunden Blatt's abzuweichen, der an Kehlkopfmuskeln 2,5 - 5 Monate alter Lämmer bei Anwesenheit von Glukagon im Inkubationsmedium eine geringe Hemmung der AIB-Aufnahme in die Muskelzelle registrierte. In unseren diesbezüglichen Versuchen, die an Kehlkopfmuskeln älterer Tiere (Alter: etwa 1/2 bzw. 1 Jahr) durchgeführt wurden, deutete sich ein entsprechender Effekt nur an.

Zusammenfassung

Es wurde untersucht, ob die Monosaccharid- und Aminosäurenaufnahme in die Muskelzellen und Erythrozyten beim Lamm entwicklungsbedingten Veränderungen unterliegt. Die Untersuchungen wurden in vitro an isolierten Kehlkopfmuskeln und gewaschenen Erythrozyten durchgeführt. Der Verteilungsquotient der ^{14}C -markierten nicht metabolisierbaren Modellsubstrate 3-o-methylglucose (=MG) bzw. α -Aminoisobuttersäure (=AIB) zwischen der intrazellulären Flüssigkeit der Zellen und dem Inkubationsmedium ($= \frac{[S]_i}{[S]_a}$) nach 2-stündiger Inkubation diente als Parameter zur Beurteilung der Substrataufnahme.

Es wurden folgende Ergebnisse erhalten:

1. Die Aufnahme von MG und AIB in die Muskelzellen war bei Junglämmern (Alter: bis 7 Tage) höher als bei älteren Lämmern (Alter: 3-4 Monate). Dieser Unterschied scheint altersbedingt zu sein und keine Beziehung zur Vormagenentwicklung zu haben, da sich bei gleichaltrigen Lämmern (Alter: 3-4 Monate), die auf Grund verschiedenartiger Fütterung deutliche Unterschiede in der Vormagenentwicklung aufwiesen, keine Gruppendifferenzen ergaben.
2. Insulin stimulierte die Aufnahme von MG und AIB in die Muskelzelle. Dieser Effekt war unabhängig von der Vormagenentwicklung. Jedoch schien die Aufnahme von MG im Gegensatz zur Aufnahme von AIB in die Muskelzelle bei den Junglämmern durch Insulin stärker stimuliert zu werden als bei den älteren Lämmern. Glukagon beeinflusste die AIB-Aufnahme in die Muskelzelle bei Schafen (Alter: ca. 1/2 Jahr bzw. 1 Jahr) nicht signifikant.

3. Die Aufnahme von MG und AIB in Erythrozyten erfolgt nach unseren Ergebnissen bei Junglämmern langsamer als bei älteren Lämmern. Die Vormagenentwicklung scheint dabei keine Rolle zu spielen. Insulin hatte auf die MG- und AIB-aufnahme in Erythrozyten keinen Einfluß.

Nach unseren Ergebnissen scheint somit beim Lamm die Aufnahme von Monosacchariden und zumindest eines Teils der neutralen Aminosäuren in die Muskelzellen und Erythrozyten durch das Alter, nicht aber durch die mit der Vormagenentwicklung einhergehende Stoffwechselumstellung beeinflußt zu werden.

Summary

=====

It was investigated, whether in lambs monosaccharide and amino acid uptake into muscle cells and erythrocytes undergoes developmental changes.

The experiments were carried out in vitro employing isolated larynx muscles and washed erythrocytes.

The distribution ratio of the ^{14}C -labelled nonmetabolizable model substrates 3-o-methylglucose (= MG) and α -aminoisobutyric acid (= AIB) between the intra-cellular fluid and the incubation medium ($= \frac{[S]_i}{[S]_a}$) was used as parameter for substrate uptake.

The following results were obtained:

1. The uptake of MG and AIB into muscle cells of young lambs (age: up to 7 days) was much higher than that of older lambs (age: 3-4 months). This difference appears to be caused by age and not to be related to forestomach development, because there was no group difference between lambs of the same age (age: 3-4 months), which because of different feeding showed marked differences in forestomach development.
2. Insulin stimulated uptake of both MG and AIB into muscle cells. This effect was independent of forestomach development.
But in contrast to the uptake of AIB into muscle cells the uptake of MG seemed to be more stimulated by insulin in young lambs than in older lambs. Glucagon had no influence on the uptake of AIB in muscle cells of sheep (age: ca. 1/2 or 1 year).

3. The uptake of MG and AIB into erythrocytes also diminishes with advancing age, as shown by our results. The forestomach development seems to be of no importance for it. Insulin had no influence on the uptake of MG and AIB into erythrocytes.

According to our results thus the uptake of monosaccharides and at least of a part of neutral amino acids into the muscle cells and erythrocytes seems to be influenced by the age and not by changes in metabolism, which occur with advancing forestomach development.

Literaturverzeichnis

1. Adolfson, S., A. Arvill, K. Ahren,
Stimulation by insulin of accumulation and
incorporation into protein of L-(H³)-pro-
line in the intact levator ani muscle from
the rat.
Biochim. Biophys. Acta 135, 176 (1967)
2. Akedo, H., H.N. Christensen,
Nature of insulin action on amino acid
uptake by the isolated diaphragm.
J. Biol. Chem. 237, 118 (1962)
3. Annison, E.F., D.B. Lindsay, R.R. White,
Metabolic interrelations of glucose and
lactate in sheep.
Biochem. J. 88, 243 (1963)
4. Ballard, J.F., R.W. Hanson, D.S. Kronfeld,
Gluconeogenesis and lipogenesis in tissues
from ruminant and nonruminant animals.
Fed. Proc. 28, 218 (1969)
5. Banos, G., P.M. Daniel, S.R. Moorhouse, O.E. Pratt,
The movement of amino acids between blood
and skeletal muscle in the rat.
J. Physiol. 235, 459 (1973)
6. Battaglia, F.C., P. J. Randle,
Regulation of glucose uptake by muscle.
The specificity of monosaccharid transport
systems in rat diaphragm muscle.
Biochem. J. 75, 408 (1960)
7. Battaglia, F.C., K.L. Manchester, P.J. Randall
Effect of insulin on monosaccharide transport
and incorporation of amino acids into protein
in diaphragm differentiated with phlorizin.
Biochim. Biophys. Acta 28, 226 (1958)
8. Bihler, I., P.C. Sawh,
The effect of oxidative metabolic substrates
on the membrane transport of sugars and on
the action of ouabain in skeletal muscle in
vitro.
Can. J. Pharmacol. 51, 371 (1973)

9. Blatt, J.,
Untersuchungen zur Regulation der Amino-
säureaufnahme in die Leber- und Muskel-
zelle bei Lämmern und Schafen.
Vet. Med. Diss. München, (1975)
10. Bleeahan, N.M., R.B. Fisher,
The action of insulin in the isolated rat
heart.
J. Physiol. 123, 260 (1954)
11. Bohlis, L.,
Comparative transport of sugars across
red blood cells.
in "Comparative Physiology", eds. L. Bolis.
K. Schmidt-Nielsen, S.H.P. Maddrell,
North-Holland Publishing Company, Amsterdam,
p. 583 (1973)
12. Cadenas, E., H. Kaji, C.R. Park,
Inhibition of the insulin effect on sugar
transport by N-ethylmaleimide.
J. Biol. Chem. 236, 63 (1961)
13. Cahill, G.F., T.T. Aoki, E.B. Marliss,
Insulin and muscle protein.
in "Handbook of Physiology"
Section 7: Endocrinology, Vol. I. Endocrine
Pancreas, Section Editors: R.O. Greep, E.B.
Astwood, American
Physiological Society, Washington, D.C.,
p. 563 (1972)
14. Chaudry, I.H., M.K. Gould,
Kinetics of glucose uptake in isolated
soleus muscle.
Biochim. Biophys. Acta 177, 527 (1969)
15. Chaudry, I.H., M.M. Sayed, A.E. Baue.
The effect of low ATP on glucose uptake in
soleus muscle during hemorrhagic shock.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 144, 321 (1973)
16. Christensen, H.N., A.J. Streicher,
Association between rapid growth and
elevated cell concentrations of amino acids.
J. Biol. Chem. 175, 95 (1948)

17. Christensen, H.N.,
Free amino acids and peptides in tissues.
in "Mammalian Protein Metabolism", ed. by
H.H. Munro, Academic Press New York, Vol. I,
p. 105 (1964)
18. Christensen, H.N., M.Liang, E.G. Archer,
A distinct Na^+ -requiring transport system
for alanine, serin, cystine and similar amino
acids.
J. Biol. Chem. 242, 5237 (1967)
19. Christensen, H.N.,
On the development of amino acid transport
systems.
Fed.Proc. 32, 19 (1973)
20. Clausen, T.,
The relationship between the transport of
glucose and cations across cell membranes in
isolated tissues.
I. Stimulating of glycogen deposition and
inhibition of lactic acid production in
diaphragm induced by ouabain.
Biochim. Biophys. Acta 109, 164 (1965)
21. Clausen, T.,
The relationship between the transport
of glucose and cations across cell membranes
in isolated tissues.
II. Effects of K^+ free medium, ouabain
and insulin upon the fate of glucose in rat
diaphragm.
Biochim. Biophys. Acta 120, 361 (1966)
22. Clausen, T.,
The relationship between the transport of
glucose and cations across cell membranes
in isolated tissues.
IV. The 'insulin-like' effect of Li^+ .
Biochim. Biophys. Acta 150, 66 (1968)
23. Clausen, T., H. Harving, A.B. Dahl-Hansen,
The relationship between the transport of
glucose and cations across cell membranes
in isolated tissues.
VIII. The effect of membrane stabilizers on
the transport of K^+ , Na^+ and glucose in
muscle, adipocytes and erythrocytes.
Biochim. Biophys. Acta 298, 293 (1973)

24. Crofford, O.B., A.E. Renold,
Glucose uptake by incubated rat epididymal
adipose tissue.
J. Biol. Chem. 240, 14 (1965)
25. Danielli, J.F.,
The present position in the field of facilitated
diffusion and selective active transport.
in "Recent Developments in Cell Physiology",
ed. by J.A. Kitching, Butterworth Scient.
Publ. London, p. 1 (1954)
26. Daniel, P.M., E.R. Love, O.E. Pratt,
Insulin-stimulated entry of glucose into
Muscle in vivo as a major factor in the
regulation of blood glucose.
J. Physiol. 247, 273 (1975)
27. Edwards, A.V.,
Carbohydrate metabolism in young animals.
in Physiology of Digestion and Metabolism in
the Ruminant", ed. by A.T. Phillipson, Oriel
Press, New Castle upon Tyne, p. 180 (1970)
28. Elbrink, J., I. Bihler,
Membrane transport: its relation to cellular
metabolic rates.
Science 188, 1177 (1975)
29. Elsas, L.J., J. Albrecht, L.E. Rosenberg,
Insulin stimulation of amino acid uptake
in rat diaphragm.
J. Biol. Chem. 243, 1846 (1968)
30. Elsas, L.J., R.C. Mc Donell, L.E. Rosenberg,
Influence of age on insulin stimulation of
amino acid uptake in rat diaphragm.
J. Biol. Chem. 246, 6452 (1971)
31. Elwyn, D.H., W.J. Launder, H.C. Parrish, E.M. Wise,
Roles of plasma and erythrocytes in inter-
organ transport of amino acids in dogs.
Amer. J. Physiol. 222, 1333 (1972)
32. Felig, P., J. Wahren, L. Raf,
Evidence of inter-organ amino acid transport
by blood cells in humans.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 70, 1775 (1973)

35. Fisher, R.B., D.B. Lindsay,
The action of insulin on the penetration
of sugars into the perfused heart.
J. Physiol. 131, 536 (1956)
34. Fricke, R., C.M. Clark,
Augmentation of glucose and amino acid
uptake in the developing rat diaphragm.
Amer. J. Physiol. 224, 117 (1973)
33. Garret, C.J., R.J. Jarret, H. Keen,
The relationship between insulin association
with tissues and insulin action.
Biochim. Biophys. Acta 121, 143 (1966)
32. Goldstein, M.S., W.L. Henry, B. Huddleston, R. Levine,
Action of insulin on transfer of sugars
across cell
barriers: common chemical configuration of
substances responsive to action of the hormone
Amer. J. Physiol. 173, 207 (1953)
31. Goodwin, R.F.W.,
Blood sugar in foetal and neo-natal mammals.
Nature 173, 777 (1954)
30. Gould, M.H., I.H. Chaudry,
The action of insulin on glucose uptake
by isolated rat soleus muscle.
Biochim. Biophys. Acta 215, 249 (1970)
29. Giliotti, G.G., A.F. Borghetti, G. Gaja, L. Loreti,
G. Fagnotti, F.P. Foa,
Amino acid uptake in the developing chick
embryo heart.
The effect of insulin on α -aminoisobutyric
acid accumulation.
Biochem. J. 107, 565 (1968)
28. Guroff, G., S. Uderfriend,
The failure of insulin to effect the transport
of tyrosine in the isolated rat diaphragm.
Biochim. Biophys. Acta 46, 386 (1967)
27. Hait, G., J. Kypson, R. Lassin,
Amino acid incorporation into myocardium:
effect of insulin, glucagon and dibutyl-3'5'-
AMP.
Amer. J. Physiol. 222, 404 (1972)

42. Helmreich, E., E.F. Cori,
Studies on tissue permeability.
II. The distribution of pentoses between
plasma and muscle.
J. Biol. Chem. 224, 663 (1957)
43. Holloszy, J.O., H.T.Narahara,
Studies of tissue permeability.
X. Changes in permeability of 3-o-methyl-
glucose associated with contractions of
isolated muscle.
J.Biol. Chem. 240, 3493 (1965)
44. Hoos, R.T., H.L. Tarpley, D.M. Regen,
Sugar transport in beef erythrocytes.
Biochim. Biophys. Acta 266, 174 (1972)
45. House, W.A., R.W.Phillips,
Changes in glucose metabolism during
postnatal development of the lamb.
Fed. Proc. 27, 557 (1968)
46. Jarret, I.G., B.J.Potter,
Insulin tolerance and hypoglycaemic
convulsions in sheep.
Austr. J.Exp. Biol. 31, 311 (1953)
47. Jarret, I.G., G.B. Jones, B.J.Potter,
Changes in glucose utilization during
development of the lamb.
Biochem.J. 90, 189 (1964)
48. Jarret, I.G., B.J.Potter,
Carbohydrate metabolism in the young lamb.
Austr. J.Exptl. Biol. 30, 207 (1952)
49. Kipnis, D.M., C.F.Cori,
Studies of tissue permeability.
III. The effect of insulin on pentosubstrate
by the diaphragm.
J.Biol. Chem. 224, 681 (1957)
50. Kipnis, D.M., M.W.Noall,
Stimulation of amino acid transport by
insulin in the isolated rat diaphragm.
Biochim.Biophys. Acta 28, 226 (1958)

51. Kipnis, D.M., C.F.Cori,
Studies of tissue permeability
V. Penetration and phosphorylation of 2-
deoxy-glucose in the rat diaphragm.
J.Biol.Chem. 234, 171 (1959)
52. Kipnis, D.M., J.E.Parrish,
Role of Na⁺ and K⁺ on sugar (2-deoxyglucose)
and amino acid (α-aminobutyric acid) trans-
port in striated muscle.
Fed.Proc. 24, 1064 (1965)
53. Kohn, P.G., T.Clausen,
The relationship between the transport of
glucose and cations across cell membranes
in isolated tissues.
VI. The effect of insulin, ouabain and
metabolic inhibitors on the transport of
β-o-methylglucose and glucose in rat soleus
muscle.
Biochim. Biophys. Acta 225, 277 (1971)
54. Kohn, P.G., T. Clausen,
The relationship between the transport of
glucose and cations across cell membranes
in isolated tissues.
VII. The effect of extracellular Na⁺ and K⁺
on the transport of β-o-methylglucose and
glucose in rat soleus muscle.
Biochim. Biophys. Acta 255, 798 (1972)
55. Krahrl, M.E.,
Incorporation of C¹⁴-amino acids into
gluthione and protein fractions of normal
and diabetic rat tissues.
J. Biol.Chem. 200, 99 (1953)
56. Kornfeld, D.S., M.G.Simesen,
Glucose biokinetics in sheep.
Amer. J.Physiol. 201, 639 (1961)
57. Krupka, R.M.,
Evidence for a carrier conformational
change associated with sugar transport
in erythrocytes.
Biochemistry 10, 1143 (1971)

58. Leat, W.M.F.,
Carbohydrate und lipid metabolism in the
ruminant during post-natal development.
in "Physiology of Digestion and Metabolism
in the Ruminant", ed. by A.T.Phillipson,
Oriel Press, Newcastle upon Tyne, p.211 (1970)
59. Le Fevre, P.G.,
Eididence of active transfer of certain
nonelectrolytes across the human red cell
membrane.
J.Gen. Physiol. 31, 505 (1948)
60. Le Fevre, P.G., J.K. Marshall,
Conformational specificity in a biological
sugar transport system.
Amer. J.Physiol. 194, 333 (1958)
61. Le Fevre, P.G.,
Sugar transport in red blood cells:
structure activity relationship in substrate
antagonists.
Pharmacol. Rev. 13, 39 (1961)
62. Le Fevre, P.G.,
Rate and affinity in human red blood
cell sugar transport.
Amer.J.Physiol. 203, 286 (1962)
63. Levine, R.M.S. Goldstein, B.Huddleston, S.P.Klein,
Action of insulin on the permeability of cells
to free hexoses, as studied by its effect on
the distribution of galactose.
Amer.J.Physiol. 163, 70 (1950)
64. Levine, R., D.L. Oxeneder, W.D.Stein,
The substrate facilitated transport of the
glucose carrier across the human erythrocyte
membrane.
Biochim. Biophys. Acta 109, 151 (1965)
65. Levine, R.,
The action of insulin at the cell membrane.
Amer. J.Med. 40, 691 (1966)
66. Lundgaard, E.,
On the mode of action of insulin.
Uppsala Läkfor. Förh., 45, 143 (1939)

67. Malaisse, W., J.R.M. Frankson,
Application des radioisotopes a l' étude
de la consommation de glucose par le
diaphragme de rat normal.
Regulation entre la fixation tissulaire
et l' effect metabolique de l' insuline.
Arch. Intern. Pharmacodyn. 155, 484 (1965)
68. Manchester, K.L., F.G. Young,
The effect of insulin in vitro on accumulation
of amino acids by isolated rat diaphragm.
Biochem.J. 75, 487 (1960)
69. Manchester, K.L.,
The control by insulin of amino acid
incorporation in muscle.
Biochem.J. 117, 457 (1970)
70. Manchester, K.L., G.G. Guidotti, A.F. Borghetti,
B. Lüneburg,
Evaluation of kinetic parameters for uptake
of amino acids by cells.
Effects of insulin on the accumulation of
aminoisobutyrate and cycloleucine by isolated
rat diaphragm muscle and chick embryo heart.
Biochim. Biophys. Acta 241, 226, (1971)
71. Manns, J.G., J.M. Boda,
Insulin release by acetate, propionate,
butyrate and glucose in lambs and adult sheep.
Amer. J. Physiol. 212, 747 (1967)
72. Martin, D.B., J.R. Carter,
Insulin-stimulated glucose uptake by sub-
cellular particles from adipose tissue cells.
Science 167, 873 (1970)
73. Mc Candless, E.L., J.A. Dye,
Physiological changes in intermediary meta-
bolism of various species of ruminants in-
cident to functional development of the rumen.
Amer. J. Physiol. 162, 434 (1950)
74. Mc Carthy, R.D., E.M. Kesler,
Relation between age of calf, blood glucose,
blood and rumen levels of volatile fatty
acids and in vitro cellulose digestion.
J. Dairy Sci. 39, 1280 (1956)

75. Morgan, H.E., C.F. Kalman, R.L. Post, C.R. Park,
Kinetics of glucose transport across
cell membrane.
Fed. Proc. 14, 103 (1955).
76. Morgan, H.E., P.J. Randle, D.M. Regen,
Regulation of glucose uptake by muscle.
The effect of insulin, anemia, salicylate,
and 2:4-dinitrophenol on membrane transport
and intracellular phosphorylation of glucose
in the isolated rat heart.
Biochem. J. 73, 573 (1959)
77. Morgan, H.E., E. Cadenas, D.M. Regen, C.R. Park,
Regulation of glucose uptake in muscle.
Rate limiting steps and effects of insulin
and anoxia in heart muscle from diabetic rats.
J. Biol. Chem. 236, 262 (1961)
78. Morgan, H.E., D.M. Regen, C.R. Park,
Identification of a mobile carrier mediated
sugar transport system in muscle.
J. Biol. Chem. 239, 369 (1964)
79. Morgan, H.E., J.R. Neely, R.E. Wood, E. Liebecq,
H. Liebermeister, C.R. Park,
Factors affecting glucose transport in heart
muscle and erythrocytes.
Fed. Proc. 24, 1040 (1965)
80. Morgan, H.E., M.J. Henderson, D.M. Regen, C.R. Park,
Regulation of glucose uptake in muscle.
The effects of insulin and anoxia on
glucose transport and phosphorylation in
isolated perfused heart of normal rats.
J. Biol. Chem. 236, 253 (1961)
81. Morgan, H.E., J.R. Neely,
Insuline and membrane transport.
in "Handbook of Physiology", Section 7:
Endocrinology, Vol. I, Endocrine Pancreas,
Section Editors:
R.O. Greep, E.B. Astwood, American Physiological
Society, Washington, D.C., p. 323 (1972)
82. Munro, H.N.,
Mammalin protein metabolism.
Vol. III, Academic Press New York and
London, p. 85, (1969)

83. Narahara, H.T., P. Özand,
Studies of tissue permeability.
VII. The effect of insulin on glucose
penetration and phosphorylation in frog
muscle.
J. Biol. Chem. 235, 3370 (1960)
84. Narahara, H.T., P. Özand,
Studies of tissue permeability.
IX. The effect of insulin on the penetration
of 3-o-methylglucose- H^3 in frog muscle.
J. Biol. Chem. 238, 40 (1963)
85. Narahara, H.T., J.O. Holloszy,
The action of insulin, trypsin and electrical
stimulation on amino acid transport in muscle.
J. Biol. Chem. 249, 5435 (1974)
86. Oxeneder, D.L., H.N. Christensen,
Distinct mediating systems for the transport
of neutral amino acids by the Ehrlich cell.
J. Biol. Chem. 238, 3686 (1963)
87. Park, C.R., L.H. Johnson,
Effect of insulin on transport of glucose and
galactose into cells of rat muscle and brain.
Amer. J. Physiol. 182, 17 (1955)
88. Park, C.R., R.L. Post, C.F. Kalman, J.H. Wright,
L.H. Johnson, H.E. Morgan,
The transport of glucose and other sugars
across cell membranes involving insulin.
Ciba. Coll. Endocrin. 9, 240 (1956)
89. Park, C.R., D. Reinwein, M.J. Henderson, E. Cadenas,
H.E. Morgan,
The action of insulin on the transport of
glucose through the cell membrane.
Amer. J. Med. 16, 674 (1959)
90. Park, C.R., O.B. Crofford, T. Kono,
Mediated (non active) transport of glucose
in mammalian cells and its regulation.
J. Gen. Physiol. 52, 296 (1968)

91. Perk, K., Y.F. Frei, A. Herz,
The osmotic resistance and hemoglobin
pattern of erythrocytes obtained from
growing lambs.
Amer. J. Vet. Res. 25, 68 (1964)
92. Post, R.L., H.E. Morgan, C.R. Park,
Regulation of glucose uptake in the muscle.
The inter-action of membrane transport and
phosphorylation in the control of glucose
uptake.
J. Biol. Chem. 236, 269 (1961)
93. Randle, P.J., G.H. Smith,
Regulation of glucose uptake by muscle.
The effect of insulin, anaerobiosis and cell
poisons on the uptake of glucose and release
of potassium by isolated rat diaphragm.
Biochem. J. 70, 490 (1958)
94. Regen, D.M., H.E. Morgan,
Studies on the glucose-transport systems in
the rabbit erythrocyte.
Biochim. Biophys. Acta 79, 151 (1964)
95. Reid, R.L.,
Studies on the carbohydrate metabolism of
sheep. III. The blood glucose during insulin
hypoglycaemia.
Austr. J. Agr. Res. 2, 132 (1951)
96. Reid, R.L.,
Insulin tolerance and hypoglycaemic convulsions
in sheep.
Austr. J. Exptl. Biol. 31, 311 (1953)
97. Reid, R.L.,
Studies on the carbohydrate metabolism of sheep.
VI. Interrelationship between changes in the
distribution and levels of glucose and in the
levels of volatile fatty acids in the blood
of lambs.
Austr. J. Agr. Res. 4, 213 (1953)
98. Reid, R.L.,
Studies on the carbohydrate metabolism of sheep.
VII. Intravenous glucose and acetate tolerance
tests.
Austr. J. Agr. Res. 9, 788 (1958)

99. Riggs, T.R., H.N. Christensen,
Concentrating activity of reticulocytes for
glycine.
J. Biol. Chem. 194, 53 (1952)
100. Riggs, T.R., L.M. Walker, H.N. Christensen,
Potassium migration and amino acid transport.
J. Biol. Chem. 233, 1479 (1958)
101. Riggs, T.R.
Hormones and transport across cell membranes.
in "Biochemical Action of Hormones", Vol. I,
ed. by G. Litwack, Academic Press New York,
p. 196 (1970)
102. Riggs, T.R., K.J. Mc Kirahan,
Action of insulin on transport of L-alanine
into rat diaphragm in vitro.
Evidence, that the hormone affects only one
amino acid transport system.
J. Biol.Chem. 248, 6450 (1973)
103. Rosenberg, T., W. Willbrandt,
Uphill transport induced by counterflow.
J. Gen. Physiol. 41, 289 (1957)
104. Sen, A.K., W.F.Widdas,
Determination of the temperature and pH
dependence of glucose transfer across human
erythrocyte membrane measured by glucose exit.
J. Physiol. 160, 392 (1962)
105. Sinex, F.M., J. Max Mullen, A.B. Hastings,
The effect of insulin on the incorporation
of C¹⁴ into protein of rat diaphragm.
J. Biol. Chem. 198, 615 (1952)
106. Stadie, W.C., N. Haugaard, J.B. Marsh, A.G.Hills,
The chemical combination of insulin with
muscle (diaphragm) of normal rat.
Amer. J. Med. Sci. 218, 265 (1949)
107. Stadie, W.C., N. Haugaard, M. Vaughn,
Studies of insulin binding with isotopically
labelled insulin.
J. Biol. Chem. 199, 729 (1952)

108. Stein, W.D.,
Facilitated diffusion - the kinetic
analysis.
in "The Movement of Molecules across Cell
Membranes",
Academic Press New York, p. 126 (1967)
109. Stein, W.D.,
The transport of sugars.
Brit. Med. Bull. 24, 146 (1968)
110. Stern, J.S., C.A. Baile, J. Meyer,
Growth hormone, insulin and glucose in
suckling, weanling and mature ruminants.
J. Dairy Sci. 54, 1052 (1971)
111. Thomas, E.L., H.N. Christensen,
Indications of spatial relations among
structures recognizing amino acids and Na^+
at a transport receptor side.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 40, 277 (1970)
112. Thomas, E.L., H.N. Christensen,
Nature of the cosubstrate action of Na^+
and neutral amino acids in a transport system.
J. Biol. Chem. 246, 1682 (1971)
113. Weber, M.J.,
Hexose transport in normal and Rous sarcoma
virus-transformed cells.
J. Biol. Chem. 248, 2978 (1973)
114. Wheeler, K.P., H.N. Christensen,
Role of Na^+ in the transport of amino acids
in rabbit red cells.
J. Biol. Chem. 242, 1450 (1967)
115. Wheeler, K.P., H.N. Christensen,
Interdependent fluxes of amino acids and
sodium ion in the pigeon red blood cell.
J. Biol. Chem. 242, 3782 (1967)
116. Widdas, W.F.,
Inability of diffusion to account for placental
glucose transfer in the sheep and consideration
of the kinetics of a possible carrier transfer.
J. Physiol. 118, 23 (1952)

117. Wiódas, W.F.
Facilitated transfer of hexoses across
the human erythrocyte membrane.
J. Physiol. 125, 163 (1954)
118. Willbrandt, W.,
Coupling between simultaneous movements of
carrier substrates.
J. Membrane Biol. 10, 357 (1972)
119. Winter, C.G., H.N. Christensen,
Migration of amino acids across the membrane
of the human erythrocyte.
J. Biol. Chem. 239, 872 (1964)
120. Wohltmann, H.J., H.T. Narahara,
Binding of insulin-J ¹³¹ by isolated frog
sartorius muscle.
Relationship of changes in permeability to
sugar caused by insulin.
J. Biol. Chem. 241, 4931 (1966)
121. Wool, I.G.,
Effect of insulin on accumulation of radio-
activity from amino acids by isolated intact
rat diaphragm.
Nature 202, 196 (1964)
122. Wool, I.G.,
Relation of effects of insulin on amino
acids transport and on protein synthesis.
Fed. Proc. 24, 1060 (1965)
123. Young, J.W., E.O. Otchere, A. Trenkle, N.L.Jacobsen,
Effect of age on glucose, reducing sugars
and plasma insulin in blood of milk-fed
calves.
J. Nutrition 100, 1267 (1970)
124. Young, J.D., J.C. Ellory, E.M. Tucker,
Amino transport defect in glutathione-
deficient sheep erythrocytes.
Nature 254, 156 (1975)
125. Siegel, S.,
Nonparametric statistics for the beharorial
sciences.
Mc Graw-Hill Book Company, Inc., New York,
p. 79 and 116 (1956)

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. Erwin Scharrer für die Überlassung des Themas und für seine jederzeit gewährte freundliche Unterstützung sowie für die zahlreichen Anregungen bei der Durchführung meiner Untersuchungen.

Diese Arbeit ist im Sonderforschungsbereich 147 - Jungtierkunde München - entstanden.

Lebenslauf

Am 31.7.1943 wurde ich, Heinrich Hüntemann, als zweites von sieben Kindern des Landwirts Anton Hüntemann und seiner Ehefrau Johanna, geb. Levering, in Schöppingen geboren.

Vom Frühjahr 1950 an besuchte ich 5 Jahre die Volksschule Schöppingen und anschließend das Humanistische Alexander-Hegius-Gymnasium in Ahaus, wo ich am 19.2.1965 die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1965 studierte ich Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München und leistete ab 1.10.1965 meinen 18-monatigen Grundwehrdienst in Rheine ab.

Im Sommersemester 1967 nahm ich an der Ludwig-Maximilians-Universität München das Studium der Tiermedizin wieder auf und beendete es am 9.3.1972 mit dem Staatsexamen.

Am 29.5.1972 wurde mir die Bestallung als Tierarzt erteilt.

Vom 1.7.1972 an war ich 2 Jahre als Verwalter der Dienstgeschäfte eines wiss. Assistenten am Lehr- und Versuchsgut der Universität München in Oberschleißheim tätig.

Seit dem 1.8.1972 bin ich mit der Dipl. Soziologin Ulrike Hüntemann, geb. Machtemes, verheiratet.

Mit der vorliegenden Arbeit beschäftige ich mich seit Herbst 1974.

